

THÈSES

PRÉSENTÉES

à la Faculté des Sciences de l'Université de Paris

POUR OBTENIR

le Titre de Docteur de l'Université

PAR

SERGE LEVENSON

Licencié ès Sciences de l'Université de Lausanne

1^{re} THÈSE — MOBILITÉ ET CILS DES BACTÉRIES.

2^{me} THÈSE — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le **12 MAI 1938** devant la Commission d'Examen.

MM. A. GUILLIERMOND, *Président.*

PLANTEFOL

MANGENOT

} *Examineurs.*

PARIS

**Imprimerie des 2 Artisans
20, Rue Montbrun, 20**

1938

THÈSES

PRÉSENTÉES

à la Faculté des Sciences de l'Université de Paris

POUR OBTENIR

le Titre de Docteur de l'Université

PAR

SERGE LEVENSON

Licencié ès Sciences de l'Université de Lausanne

1^{re} THÈSE — MOBILITÉ ET CILS DES BACTÉRIES.

2^{me} THÈSE — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le **12 MAI 1938** devant la Commission d'Examen.

MM. A. GUILLIERMOND, *Président.*

PLANTEFOL

MANGENOT

} *Examineurs.*

PARIS

**Imprimerie des 2 Artisans
20, Rue Montbrun, 20**

1938

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen honoraire M. MOLLIARD.
Doyen C. MAURAIN, *Professeur*, Physique du Globe.

Professeurs honoraires..	H. LEBESGUE.	BLAISE.	G. BERTRAND.
	A. FERNBACH.	DANGEARD.	ABRAHAM.
	Emile PICARD.	LESPIEAU.	Ch. FABRY.
	Léon BRILLOUIN.	MARCHIS.	Léon BERTRAND.
	GUILLET.	VESSIOT.	WINTREBERT.
	PÉCHARD.	PORTIER.	DUBOSQ.
	FREUNDLER.	MOLLIARD.	BOHN.
	AUGER.	LAPIQUE.	

PROFESSEURS

M. CAULLERY	T	Zoologie (Evolution des êtres organisés).	H. BÉGHIN T	Mécanique physique et expérimentale.
G. URBAIN	T	Chimie générale.	FOCH	Mécanique expérimentale des fluides.
Emile BOREL	T	Calcul des probabilités et Physique mathématique.	PAUTHENIER	Physique (P. C. B.).
Jean PERRIN	T	Chimie physique.	De BROGLIE	T Théories physiques.
E. CARTAN	T	Géométrie supérieure.	CHRÉTIEN	Optique appliquée.
A. COTTON	T	Recherches physiques.	P. JOB	Chimie générale.
J. DRACH	T	Analyse supérieure et Algèbre supérieure.	LABROUSTE	Physique du Globe.
Charles PÉREZ	T	Zoologie.	PRENANT	T Anatomie et Histologie comparées.
E. RABAUD	T	Biologie expérimentale.	VILLEY	Mécanique physique et expérimentale.
M. GUICHARD		Chimie minérale.	COMBES	T Physiologie végétale.
Paul MONTEL	T	Théorie des fonctions et Théorie des transformations.	GARNIER	T Mathématiques générales.
L. BLARINGHEM ..	T	Botanique.	PÉRIS	Mécanique théorique des fluides.
G. JULIA	T	Mécanique analytique et Mécanique céleste.	HACKSPILL	Chimie (P. C. B.).
C. MAUGUIN	T	Minéralogie.	LAUGIER	T Physiologie générale.
A. MICHEL-LÉVY...	T	Pétrographie.	TOUSSAINT	Technique Aéronautique.
H. BÉNARD	T	Mécanique expérimentale des fluides.	M. CURIE	Physique (P. C. B.).
A. DENJOY	T	Application de l'analyse à la Géométrie.	G. RIBAUD	T Hautes températures.
L. LUTAUD	T	Géographie physique et géologie dynamique.	CHAZY	T Mécanique rationnelle.
Eugène BLOCH ...	T	Physique.	GAULT	Chimie (P.C.B.).
G. BRUHAT	T	Physique.	CROZE	Recherches Physiques.
E. DARMOIS	T	Enseignement de Physiq ^e	DUPONT	T Théories chimiques.
A. DEBIERNE	T	Physique Générale et Radioactivité.	LANQUINE	T Géologie structurale et Géologie appliquée.
A. DUFOUR	T	Physique (P. C. B.).	VALIRON	Mathématiques générales.
L. DUNOYER		Optique appliquée.	BARRABÉ	Géologie structurale et Géologie appliquée.
A. GUILLIERMOND .	T	Botanique.	MILLOT	Biologie animale (P.C.B.).
M. JAVILLIER	T	Chimie Biologique.	F. PERRIN	Théories physiques.
L. JOLEAUD		Paléontologie.	VAVON	Chimie organique.
ROBERT-LÉVY	T	Physiologie comparée.	G. DARMOIS	Calcul des probabilités et Physique-Mathématique
F. PICARD		Zoologie (Evolution des êtres organisés).	CHATTON	T Biologie maritime.
Henri VILLAT	T	Mécanique des fluides et applications.	AUBEL	Chimie biologique.
Ch. JACOB	T	Géologie.	Jacques BOURCART.	Géographie physique et Géologie dynamique.
P. PASCAL	T	Chimie minérale.	M ^{me} JOLIOT-CURIE .	Physique générale et Radioactivité.
M. FRÉCHET	T	Calcul différentiel et Calcul intégral.	PLANTEFOL	Biologie végétale (P.C.B.)
E. ESCLANGON	T	Astronomie.	CABANNES	Enseignem. de Physique.
M ^{me} RAMART-LUCAS	T	Chimie organique.	GRASSÉ	Biologie animale (P.C.B.)
			PRÉVOST	Chimie (P.C.B.).

Secrétaire A. PACAUD.
Secrétaire honoraire D. TOMBECK.



A LA MEMOIRE DE MES PARENTS

A LA MEMOIRE DE MON ONCLE A. DOBRY

MOBILITÉ ET CILS DES BACTÉRIÈS

AVANT-PROPOS

L'origine de ce travail a été d'ordre purement pratique. En effet, en étudiant les différentes souches de quelques microbes anaérobies, notamment du B. œdematiens, de la collection de M. Weinberg, j'ai été frappé par la grande difficulté que l'on éprouve lorsqu'on cherche à mettre en évidence la mobilité de certaines d'entre elles. Ceci m'a amené à chercher un procédé simple et sûr de colorations des cils.

Au cours de mes recherches, j'ai pu constater que la méthode de Casares-Gil, complètement négligée par la majorité des microbiologistes, présente de grands avantages par le fait de sa simplicité et par les bons résultats qu'elle donne d'emblée. En continuant mes recherches, je me suis trouvé en présence de quelques bactéries dont les cils étaient très difficiles à colorer. Dans ces cas, ni la méthode de Casares-Gil, ni les autres méthodes de coloration plus ou moins simples ne m'ont donné satisfaction. Après de nombreuses expériences, je suis parvenu à modifier la méthode de Casares-Gil et à mettre au point une technique de coloration des cils qui, tout en étant simple, est très sûre et permet la coloration des cils même dans les cas les plus difficiles.

M. Weinberg m'a conseillé de profiter de mon expérience en matière de coloration des cils bactériens pour m'attaquer à l'étude biologique de quelques questions spéciales du domaine de la mobilité et des cils des bactéries.

J'ai fait des recherches sur le problème de la mobilité et des cils chez les Coccaceae, notamment chez les Streptococées, un problème qui jusqu'à ces derniers temps a été peu étudié. Mes recherches ont porté sur l'entérocoque, un microbe qui m'intéresse tout particulièrement à cause de sa fréquence

dans les appendices gangréneux que l'on étudie systématiquement dans le laboratoire de M. Weinberg.

Enfin, j'ai cru intéressant d'étudier la question de la perte et de l'acquisition des cils bactériens.

La bibliographie des questions que j'ai traitées dans cet ouvrage est déjà très abondante. J'ai réuni, avec le plus grand soin, dans un index bibliographique, les indications dispersées dans la littérature du monde entier.

Arrivé au terme de mon travail, c'est pour moi un agréable devoir d'adresser mes sincères remerciements à mes Maîtres qui m'ont témoigné tant de sympathie.

Ma gratitude va d'abord à mon Maître, M. le professeur B. Galli-Valerio, Directeur de l'Institut d'Hygiène Expérimentale et de Parasitologie de l'Université de Lausanne, qui m'a initié à la microbiologie. Je n'oublierai jamais ni l'atmosphère de bienveillance que j'ai trouvé dans son laboratoire, ni cette rigueur scientifique qu'il m'a inculquée, ni l'intérêt avec lequel il suit, depuis de longues années, mes recherches.

Je n'oublierai non plus la bonté avec laquelle mon Maître, M. le Professeur M. Weinberg, Chef de Service à l'Institut Pasteur, Membre de l'Académie de Médecine, m'a accueilli, voilà plus de quatre ans, dans son laboratoire. C'est lui qui m'a inspiré le sujet de cette thèse et m'a guidé de ses conseils dans la conduite de mes recherches. Qu'il trouve ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

Mes cordiaux remerciements vont également à mes collègues du laboratoire : Mlles Guillaumie et Kreguer et M. le Colonel-Vétérinaire Forgeot qui m'ont très aimablement facilité mon travail.

Je remercie très respectueusement M. le Professeur Guilhaumon d'avoir bien voulu présider ma thèse.

INTRODUCTION

HISTORIQUE

La connaissance de l'existence des espèces microbiennes mobiles date des débuts de la microbiologie. En effet, Leeuwenhoek (1632-1723) qui fut le premier à observer les microbes au moyen de ses instruments optiques très primitifs, les décrit déjà comme étant mobiles. Si intéressantes que soient ses observations du point de vue historique, leur portée n'est toutefois pas très grande pour l'étude des problèmes que nous allons envisager dans ce travail, car l'existence des cils bactériens, auxquels est lié la mobilité, n'était pas encore connue. En plus, il n'est pas possible de se prononcer avec une certitude absolue sur la nature des microorganismes décrits et dessinés par Leeuwenhoek.

Ce n'est qu'en 1838 qu'Ehrenberg observe, pour la première fois, les cils chez le *Bacterium triliculare* et chez l'*Ophiodomonas jenensis* et les décrit comme des « trompes fines » (zarte Rüssel). (Le *B. triliculare* est toutefois une forme douteuse ; on ne sait pas s'il s'agissait vraiment d'une bactérie). Des observations de ce genre ont ensuite été faites par Ferdinand Cohn (1872) sur le *Spirillum volutans*, par Dallinger et Drysdale (*Bact. termo*) (1875), par Warming, etc.

Toutes ces observations ont été faites *in vivo*, sans coloration. C'est Robert Koch qui, en 1877, a fourni la preuve de l'existence réelle des cils en photographiant des préparations desséchées non colorées. C'est d'ailleurs également R. Koch qui a réalisé les premières colorations des cils.

Mais si la mobilité des bactéries et l'existence de cils étaient établies, on n'était pas encore d'accord quant à leur rôle : alors que Ehrenberg, Cohn, Dallinger et Drysdale, R. Koch considéraient les cils comme des organes de locomotion active, d'autres auteurs n'admettaient aucun rapport entre la mobilité et la présence de cils [Naegeli (1860), Van Tieghem (1879), de Bary (1884-1887), Hueppe (1886)] .

Loeffler (1889) démontre, le premier, la présence de cils chez toutes les bactéries mobiles. Alfred Fischer (1895) dé-

clare que l'on n'arrive pas à mettre en évidence les cils chez les bactéries immobiles. Le rôle des cils comme organes de locomotion était ainsi définitivement établi.

Nous nous contentons de donner ici ces quelques indications historiques ; on trouvera plus de détails sur ce sujet dans l'ouvrage classique de Migula « System der Bakterien » (1897, t. I).

GÉNÉRALITÉS

Le rôle des cils comme organes de locomotion étant établi, l'intérêt des recherches sur ce sujet n'était pas épuisé. Bien au contraire. Nombre de chercheurs s'occupant de l'étude de la mobilité et des cils apportèrent une grande quantité d'observations très intéressantes et parfois contradictoires.

En effet, il y avait et il y a toujours bien des problèmes à étudier et à résoudre, tels que : le mécanisme du mouvement ciliaire et, par conséquent, le mécanisme de la mobilité des bactéries (on trouvera un bon exposé de cette question chez E. Frache, 1926 ; voir en outre les travaux de Reichert, 1909, Ulehla, 1911 ; Meyer, 1912 ; Neumann, 1925, 1928 ; Pijper, 1930, 1931, etc.), la vitesse du déplacement (Lehmann et Fried, 1903, Lasseur, 1911, Sanarelli, 1919, Frache, 1926, Ogiuti, 1936, etc.) et d'autres questions encore.

Nous ne pouvons pas traiter ici tous les problèmes concernant la mobilité et les cils. Cependant, avant d'entreprendre l'étude approfondie de quelques chapitres spéciaux qui font l'objet de notre travail, nous devons nous arrêter sur quelques autres points.

Arrêt du mouvement ciliaire. En examinant au microscope, entre lame et lamelle, une goutte d'un liquide en fermentation butyrique, Pasteur fut surpris de constater que les bâtonnets qui se trouvaient sur les bords de la préparation, c'est-à-dire au voisinage de l'air, devenaient rapidement immobiles, alors que les autres, qui se trouvaient au centre de la préparation, où l'air est réduit au minimum, conservaient parfaitement leur mobilité. On sait que les bacilles butyriques sont des anaérobies, et nous reviendrons plus loin sur les procédés spéciaux pour l'observation de la mobilité des anaérobies.

Cet arrêt de la mobilité, cette « paralysie » des cils (« Geisselstarre » des auteurs allemands) est un phénomène classiquement connu. Il peut être provoqué par des causes différentes : présence d'oxygène lorsqu'il s'agit des anaérobies, manque d'oxygène pour les aérobies très stricts, température trop élevée ou trop basse (« Wärmestarre », « Kältestarre » des auteurs allemands), réaction trop acide ou trop alcaline du milieu, etc.

Ce phénomène a été si souvent observé et décrit qu'il serait presque impossible et même inutile de donner ici des indications bibliographiques. Signalons seulement en passant les recherches très intéressantes de M. Van Riemsdijk (1929), qui a étudié l'influence de l'oxygène sur la mobilité des Vibrions cholériques. Nous ne pouvons pas entrer dans les détails ; disons seulement qu'il paraît s'agir ici d'un phénomène assez compliqué et que, dans certains cas, l'oxygène en excès semble être toxique pour ces microbes aérobies.

« *Polymotilité* » des anaérobies d'après M. Van Riemsdijk. On a fait depuis longtemps l'observation que certaines espèces microbiennes se distinguent des autres par le caractère et la vitesse de leurs mouvements. Pour ne citer qu'un exemple classique, disons que le bacille typhique se déplace généralement plus rapidement que le *B. coli*.

M. Van Riemsdijk (1922), dont nous mentionnerons plus loin le dispositif pour l'examen des anaérobies en goutte pendante, arrive à la conclusion qu'il y a une différence entre la mobilité des aérobies et celle des anaérobies. Tandis que tous les individus d'une espèce bactérienne aérobie présentent, dans la même culture, le même caractère de mouvement, il en serait autrement pour les anaérobies ; dans les cultures de ces microbes, elle observerait à la fois des individus présentant les caractères de différentes espèces aérobies.

De même que le caractère des mouvements, la vitesse en serait différente pour les différents éléments d'une même culture : les uns se déplaceraient avec une rapidité vertigineuse, les autres seraient à peine mobiles ; d'autres enfin, complètement immobiles. Elle propose pour ce phénomène le terme « polymotilité ».

Nous avons examiné, au cours de ces dernières années, un grand nombre d'espèces microbiennes (anaérobies aussi

bien qu'aérobies) dans les conditions les plus variées. Dans la plupart des cas, nous avons examiné plusieurs souches de la même espèce. Les résultats de nos observations ne correspondent pas aux affirmations de M. Van Riemsdijk. Disons tout d'abord que, de même que le bacille typhique se distingue généralement du *B. coli*, le *B. oedematiens* se distingue, par exemple, très nettement par le caractère et la vitesse de ses mouvements du *B. bifementans* (en culture suffisamment jeune, bien entendu). En effet, les mouvements du *B. oedematiens* sont généralement très lents, souvent à peine perceptibles ; par contre, le *B. bifementans* se déplace, en culture très jeune (trois à quatre heures à 37°) avec une vivacité frappante. En plus, le fait qu'à côté des éléments vivement mobiles il y a, dans la même culture, des éléments faiblement mobiles et même immobiles, s'observe, d'après nos constatations, aussi bien dans des culture anaérobies que dans des cultures aérobies. Ce phénomène s'accroît au fur et à mesure que la culture vieillit. Les éléments microbiens d'une culture ne vieillissent d'ailleurs pas tous en même temps, de sorte qu'une culture, si pure qu'elle soit, contient toujours nécessairement des éléments plus jeunes et plus âgés.

Nous croyons en outre ne pas être le seul à avoir fait cette observation. Nous mentionnerons plus loin les procédés de sélection des éléments des plus mobiles d'une culture faiblement mobile. Il s'agit là de procédés imaginés pour les microbes aérobies (celui de Buonomini a été employé par l'auteur pour des souches du *B. coli*, pauvres en éléments mobiles).

En résumé, les affirmations de M. Van Riemsdijk nous paraissent au moins exagérées.

Nombre de cils. On trouve chez les auteurs souvent des indications bien différentes quant au nombre des cils d'une même espèce microbienne. Dupont (1905) a recueilli les indications de divers auteurs concernant le nombre des cils chez le *B. typhi*. Voici ces chiffres : 18-22-24 (Remy et Lugg), 8 à 12 (Luksch), jusqu'à 13 (Bunge), en moyenne 10 (Germano et Maurea), 11 à 16 (Chantemesse et Widal), 10 à 12 (Nicolle et Morax), 5 à 12, parfois même jusqu'à 50 (Peppler), au moins 10 à 12 cils (Loesener). Ajoutons que, d'après H. Rordorf, le bacille d'Eberth possède le plus souvent 5-10-15 cils, rare-

ment jusqu'à 20 (par contre le *B. paratyphi* B a, d'après ses observations, le plus souvent, 30 à 40 cils, souvent même davantage).

Prenons un autre exemple. Le *Spirillum volutans* possède, d'après Ellis (1903), jusqu'à 30 cils à chaque extrémité. Swellengrebel (1907) arrive à des chiffres tout à fait différents. En effet, il ne trouve, à chaque extrémité de ce microbe, qu'un seul cil, plus rarement deux. Fuhrmann (1910) a soumis le *Sp. volutans* à une étude approfondie ; d'après lui, les touffes polaires de ce microbe seraient composées de 15 à 25 cils. Neumann (1928) a fourni des photomicrographies du *Sp. volutans*, montrant des touffes composées d'un grand nombre de cils ; il fait remarquer qu'il a eu l'occasion de voir, dans des cultures de ce spirille, des individus n'ayant qu'un ou deux cils.

Nous nous contenterons ici de ces quelques exemples. Nous voudrions cependant attirer l'attention sur un autre fait que l'on rencontre souvent, surtout dans les manuels de bactériologie : une indication *trop* précise du nombre de cils. Il est par exemple classique de décrire le *B. botulinus* comme ayant 4 à 8 cils. Nos préparations de ce bacille montrent qu'il peut en avoir un nombre très grand (fig. 1 et 2).

A quoi sont dues ces différences ? Il peut y avoir plusieurs raisons. Tout d'abord, il peut s'agir de différences individuelles. Ensuite, une culture contient toujours des éléments d'âges différents. Enfin, il est pour nous hors de doute que la difficulté de déterminer d'une façon précise le *nombre maximum* des cils est due (au moins lorsqu'il s'agit de cils excessivement fragiles) au fait qu'ils sont très facilement arrachés lorsqu'on leur fait subir des manipulations un peu brutales, indispensables pourtant pour l'obtention des préparations.

MOBILITÉ DOUTEUSE — MOBILITÉ PRIMITIVEMENT MÉCONNUE

Ferrier (1895), dans un travail fort intéressant, rappelle un fait curieux : Tavel (1892) écrivait que *l'absence* de cils chez le *B. coli* est un caractère très important, permettant de différencier facilement ce microbe du bacille typhique. L'auteur continue en ces termes : « Au congrès de Londres, Hueppe, s'adressant à M. le professeur Arloing qui mettait en relief les points de rapprochement entre ces deux bacilles, s'exprimait ainsi : « que vos élèves me montrent des cils chez

le *Bacterium coli*, et je me range à leur opinion ».

On sait maintenant que le *B. coli* n'est pas une « bonne espèce », mais plutôt un grand groupe renfermant des formes mobiles et des formes immobiles. Ainsi, nous trouvons chez Nissle (1929), comme indication, que la plupart des souches du *B. coli* sont douées d'une mobilité sensiblement plus faible que celle du bacille typhique, mais qu'on trouve également, d'une part, des souches vivement mobiles et, d'autre part, des souches absolument immobiles. Il ajoute que, d'après certains auteurs, la forme immobile serait même la plus fréquente. On verra plus loin comment l'auteur explique cette opinion. Pour le moment, le fait qui nous intéresse est celui rapporté par Ferrier. Il nous montre qu'on avait d'abord nié la mobilité et l'existence de cils chez le *B. coli*.

Ce n'est pas un cas isolé. En effet, nous parlerons plus loin du *B. bif fermentans* qui a été considéré pendant longtemps comme immobile. Nous verrons également, dans un autre chapitre, les conditions dans lesquelles on est arrivé à constater la mobilité et la présence de cils chez le *B. pseudotuberculosis rodentium*.

Mais nous trouvons aussi dans l'histoire de la microbiologie des exemples montrant qu'on avait décrit comme mobiles des bactéries qui ne le sont pas. Nous allons en résumer ici quelques-uns.

Malvoz (1899) aurait observé dans le premier vaccin charbonneux (six jours sur gélose à 22°, ensuite émulsion en eau distillée), des bactériidies bien séparées les unes des autres et mobiles. Toutefois, il ne donne aucune indication ni sur la nature de cette mobilité ni sur la présence ou l'absence de cils.

Hinterberger (1901) a observé, dans des cultures âgées, mais aussi parfois dans des cultures très jeunes de la bactériodie charbonneuse, surtout sur gélose à base de cerveau (d'après Podwyssotzky et Tarnuchin), de nombreux filaments, formant souvent un reticulum (« Netz ») et des ramifications. Il appelle ces filaments des « mycèles » ; il ne les identifie pas aux cils, tout en disant, qu'il s'agit des parties du corps bactérien. Ces filaments seraient caractéristiques pour les bactériidies âgées. Toutefois, il semble que l'auteur ne faisait pas de distinction stricte entre les vrais cils et les filaments décrits par lui, car dans un travail publié 7 ans plus tard (1908)

il déclare que ce qu'il avait d'abord considéré comme des *cils* de la bactéridie charbonneuse n'étaient que des déchirures de la « membranane » (« Hülle »). (Nous ne voulons pas entrer ici dans les détails. Disons seulement que Hinterberger discute à nouveau dans un travail publié en 1921 la question des relations entre les cils et les « mycèles ». Les cils seraient détruits par le chauffage à 75°, les mycèles persisteraient encore à 89°.)

Nous passons maintenant aux bacilles dysentériques. On sait que Shiga avait décrit son bacille comme étant mobile. Kruse l'a trouvé immobile. Shiga, dans un travail publié en 1902, rappelle ces faits et avoue qu'il était, lui aussi, surpris de n'avoir pu tout d'abord réussir à mettre en évidence, par coloration, les cils de son bacille. Mais après avoir trouvé plus tard dans une de ses préparations *deux* cils polaires, il aurait cru voir son opinion confirmée par la coloration. Il ajoute qu'il ne voudrait pas décider s'il ne s'était pas trompé... On sait que les bacilles dysentériques « classiques » sont généralement considérés comme immobiles et non ciliés. Cependant, il y a, sur ce sujet, quelques publications assez contradictoires que nous allons résumer ici brièvement. Vedder et Duval (1901-1905) ont obtenu, en utilisant des cultures de bacilles dysentériques (Shiga, Kruse, Flexner, Strong) sur gélose, âgées de 12 heures au maximum, des préparations (méthode de Van Ermengem) dans lesquelles ils auraient vu des bactéries entourées de nombreux cils. Par contre, ils n'ont jamais pu constater la mobilité de ces microbes. En se basant sur la présence des cils, ils supposent néanmoins que ces bactéries seraient mobiles dans des conditions qu'ils n'ont pas encore pu réaliser. (Nous reviendrons, dans un autre chapitre, sur ce sujet.) Birt et Eckersley (1905) ont étudié 15 souches de bacilles dysentériques d'origine différente. Ils auraient toujours constaté une faible mobilité et la présence de cils. Muehlmann (1909) a étudié plusieurs souches du bacille de Kruse provenant de la collection de Kral à Prague. Il constate tout d'abord que l'immobilité de ce microbe n'est pas un caractère constant. Dans les cultures en bouillon il n'y aurait aucune mobilité ; dans les cultures sur gélose, l'auteur affirme avoir observé assez souvent une faible mobilité. Par des passages successifs en bouillon acide (3 gouttes d'acide chlorhydrique

sur 100 c.c. de bouillon neutre) l'auteur aurait augmenté la mobilité. Dans une autre série d'expériences, l'auteur s'est servi de milieux fortement alcalins et aurait obtenu des souches nettement mobiles. Bernhardt (1912) a refait les expériences de Muehlmann avec des milieux alcalins, en suivant strictement sa technique. Il est arrivé, par des passages successifs, à adapter les bacilles dysentériques à un degré très fort d'alcalinité (jusqu'à 5 c.c. d'une solution de bicarbonate de soude à 10 p. 100 sur 100 c.c. de bouillon). Il a obtenu ainsi des formes de dégénérescence les plus bizarres, mais jamais de formes mobiles ou ciliées, bien que ses expériences aient duré pendant 8 semaines. Burckhardt (1914) a également refait les expériences de Muehlmann (avec le bacille de Shiga-Kruse et celui de Flexner), mais les résultats ont toujours été négatifs.

Gordon (1899) a prétendu avoir constaté la mobilité du *Micrococcus (Brucella) melitensis* ainsi que du *B. pestis*. De plus, il aurait réussi à colorer les cils de ces microbes. Ces affirmations n'ont jamais été confirmées.

Dans un autre chapitre, nous parlerons encore d'un autre exemple : du bacille de Koch.

Il est évidemment très difficile, sinon impossible, d'indiquer sur quoi reposent toutes ces contradictions, toutes ces observations non confirmées. Il peut y avoir bien des causes : confusion avec le mouvement Brownien, artifices de préparation ou « pseudocils », cultures impures ou mal identifiées, etc.

Quoiqu'il en soit, il nous a semblé intéressant de rappeler ces faits. Ils nous montrent avec quels soins, avec quelles précautions il faut travailler pour que les acquisitions de la science reposent sur une base solide.

*Importance de la mobilité et des cils
pour la classification et l'identification des bactéries.*

La mobilité et les cils ont joué, dès les débuts de l'ère bactériologique, un rôle très important dans la classification des bactéries.

On sait que Davaine distinguait les genres *Bacterium* (mobile) et *Bacteridium* (immobile). Cette classification a été

abandonnée et le nom de *Bacteridium* n'a persisté que pour la bactéridie charbonneuse.

Mais nous trouvons d'autres classifications, basées en première ligne sur la mobilité ou l'immobilité des microbes ainsi que sur le nombre et la disposition des cils.

Ainsi, Migula, dans son « System der Bakterien » (t. I, 1897, t. II, 1900), crée pour les *Coccaceae* mobiles des noms de genres *Planococcus* et *Planosarcina*. Dans la famille des *Bacteriaceae*, il distingue les genres *Bacterium*, qui est immobile, *Bacillus*, mobile et ayant des cils péritriches, et *Pseudomonas*, également mobile, mais à cils monotriches ou lophotriches.

Dans la classification d'Alfred Fischer (1897) nous retrouvons tout d'abord les genres *Planococcus* et *Planosarcina* de Migula. Par contre, ni la famille des *Bacteriaceae*, ni le genre *Bacterium* ne figurent dans cette classification. Les bactéries en forme de bâtonnets sont classées ici de la façon suivante:

Famille : *Bacillaceae*.

I. — Sous-famille : *Bacilleae* (éléments sporulés cylindriques).

Genre *Bacillus* (Cohn). Immobile. Représenté par le *Bac. anthracis*, *B. tuberculosis*, *B. diphtheriae*, etc.).

Genre *Bactrinium* A. Fischer. Mobile, cils monotriches polaires. Représenté par des bâtonnets monotriches « dont les spores ne sont pas encore connues », par exemple : *B. pyocyaneus*.

Genre *Bactrillum* A. Fischer. Mobile, cils lophotriches, Ici aussi il y a beaucoup d'espèces dont les spores « sont encore inconnues », par exemple le *B. syncyaneus* (*cyanogenus*).

Genre *Bactridium* A. Fischer. Mobile, cils péritriches. Ici sont groupées aussi bien les espèces sporulées, telles que *B. subtilis*, *B. megatherium*, que les espèces « à spores encore inconnues » telles que *B. typhi*, *B. coli*, etc.

II. — Sous-Famille : *Clostridieae*. Eléments sporulés fusiformes.

Genre *Clostridium* (Prazmowski). Mobile, à cils péri-

trices. Représenté par quelques bacilles butyriques.

III. — Sous-Famille: *Plectridieae*. Eléments sporulés en forme de baguettes à tambour.

Genre *Plectridium* A. Fischer. Mobile, cils péritriches. Représenté par quelques bacilles butyriques, par le bacille tétanique, etc...

(Pour ne pas être trop long, nous laissons ici de côté les *Spirillaceae*, comme nous l'avons d'ailleurs fait aussi en parlant de la classification de Migula).

Il n'est pas dans notre intention d'approfondir ici la question des spores non encore trouvées. Disons toutefois en passant que pour A. Fischer la formation des spores par toutes les bactéries en forme de bâtonnets était hors de doute. Il s'agissait, d'après lui, seulement de trouver les conditions de culture dans lesquelles la formation des spores se produirait. (Cette conception nous rappelle beaucoup celle d'Ellis qui prétendait qu'on peut rendre mobiles et ciliées toutes les *Coccaceae* et toutes les *Bacteriaceae*. Nous en parlerons avec tous les détails nécessaires dans un des chapitres suivants).

Ces quelques exemples nous paraissent suffisants pour démontrer l'importance que certains auteurs ont attribué à la mobilité et aux cils pour la classification des bactéries. Ajoutons tout de suite qu'il y a d'autres classifications, dans lesquelles les cils ne jouent qu'un rôle tout à fait secondaire. Ainsi, dans la classification de Lehmann et Neumann (1896), la famille des *Bacteriaceae* est subdivisée en deux genres : *Bacterium*, ne produisant pas d'endospores, et *Bacillus*, avec endospores.

Quoiqu'il en soit, la mobilité et les cils ne jouent plus un rôle prépondérant dans la classification des bactéries. Ils sont devenus ce qu'ils doivent être : un caractère différentiel des espèces microbiennes parmi tant d'autres caractères.

En parlant du nombre des cils, nous avons déjà dit qu'il est bien difficile de les dénombrer d'une façon précise. Toutefois, en étudiant attentivement les données des auteurs sur ce sujet, on constate que bien que le nombre des cils varie souvent entre des limites assez larges, il peut, aussi bien que leur disposition, nous fournir des indications très précieuses

pour l'identification d'une espèce microbienne.

Nous nous contentons de donner ici quelques exemples. Lorsqu'on se trouve en présence d'un gros bâtonnet prenant le Gram, anaérobie, absolument immobile et non cilié, on pensera tout d'abord au *B. perfringens*. Le *B. faecalis alcaligenes* se distingue nettement du *B. typhi* du point de vue morphologique par son cil polaire (un cil, rarement deux). H. Rordorf (1921) donne, dans sa thèse, des tableaux qui montrent d'une façon frappante les différences qu'il y a entre les espèces du groupe *B. typhi-paratyphi* et le *B. coli* quant au nombre des cils. Ces tableaux montrent d'ailleurs aussi que ce n'est pas un caractère absolu, car elle a observé aussi des souches du *B. coli*, qui avaient, au lieu des cils péritriches, un cil polaire.

Signalons encore que, d'après Kühnemann (1910), les préparations colorées de cils permettraient de faire le diagnostic différentiel entre le *B. typhi* et le *B. paratyphi B.*, le premier de ces microbes ayant des cils plus courts, plus gros et moins nombreux que le second. La quantité plus grande de cils chez le *B. paratyphi B* que chez le *B. typhi* a été constaté, comme nous l'avons vu, également par H. Rordorf.

Nous aurons plus loin l'occasion de discuter la question de la constance de la mobilité et des cils et de nous prononcer sur l'importance qu'il faut leur attribuer en tant que caractère différentiel.

Propriétés antigéniques des cils. Leur rôle dans l'agglutination.

C'est un des problèmes les plus intéressants qui nous entraînerait trop loin si nous voulions l'exposer ici dans tous ses détails. Nous ne donnerons donc que les points essentiels.

D'après Ch. Nicolle et Trenel (1902), les microbes dépourvus de cils seraient peu ou pas agglutinables et peu ou pas agglutinogènes. Par contre, les microbes vivement mobiles, munis de nombreux cils seraient fortement agglutinables et agglutinogènes. Ces auteurs arrivent à la conclusion suivante : « La mobilité des microbes tenant à la présence de cils à leur surface, il paraît légitime de penser que c'est la tunique ciliée de ces êtres qui joue le rôle capital dans le phénomène de l'agglutination ».

Th. Smith et Reagh (1903) et Beyer et Reagh (1904), en étudiant le phénomène de l'agglutination sur le bacille de *Hog-cholera*, le *B. icteroides* et quelques autres microbes, ont été les premiers à démontrer l'existence, chez ces espèces mobiles, de deux antigènes : antigène somatique, représenté par les substances du corps microbien, et antigène flagellaires, représenté par les cils. Dans les immunsérums, ils ont trouvé deux agglutinines, l'une (« somatic agglutinin ») n'agissant que sur les corps bactériens, l'autre (« flagella agglutinin ») sur les cils.

Nous trouvons déjà dans les travaux de Smith et Reagh et de Beyer et Reagh tous les éléments essentiels des conceptions modernes au sujet des propriétés antigéniques des cils et des corps bactériens.

Cependant, les résultats obtenus par ces auteurs sont restés d'abord sans écho, ou bien ont été combattus. Ainsi, G. de Rossi (1904) nie d'une façon catégorique l'existence des deux agglutinies différentes, trouvées par Smith et Reagh. Hinterberger (1904), en se basant sur des préparations colorées de bactéries agglutinées, déclare que les cils ne jouent aucun rôle dans l'agglutination.

Ce n'est que depuis les recherches de Weil et Félix (1917) sur le séro-diagnostic du typhus exanthématique au moyen de différentes souches du *B. proteus* que l'étude de ces problèmes fut reprise. Ces auteurs ont constaté l'existence de deux sortes de colonies du *B. proteus* sur la surface de la gélose. Les unes se répandent sur toute la surface du milieu sous forme d'une membrane ou d'une nappe (« mit Hauch »), les autres restent isolées, sans confluer (« ohne Hauch »). En prenant les initiales des mots allemands « Hauch » et « ohne » ils ont créé les désignations des « souches H » et « souches O ». Ayant constaté ensuite que les souches H sont mobiles et ciliées, tandis que les souches O ne le sont pas, ils sont arrivés à la notion de l'antigène H (= antigène flagellaire) et de l'antigène O (= antigène somatique).

Les souches H contiennent évidemment aussi bien l'antigène H que l'antigène O. Ce sont donc en réalité des souches HO. Par contre, les souches O ne contiennent que l'antigène O.

L'antigène H est thermolabile ; il est détruit par le chauffage à 100°, par l'alcool, par les acides. L'antigène O est

thermostabile.

Quant à l'agglutination, les formes O donnent des agglutinats fins, les formes H de gros agglutinats (agglutination granuleuses et agglutination floconneuse).

Ces recherches, poursuivies d'abord sur le *B. proteus* (Félix et Mitzenmacher, 1918; Félix, 1922, etc.), furent étendues à d'autres microbes mobiles, tels que le bacille typhique, les bacilles paratyphiques, etc. (Weil et Félix, 1918, 1920, Félix, 1924, 1930, etc.; voir aussi le travail très important de Kauffmann, 1934, ainsi que celui de Hornus, 1935). On sait actuellement qu'elles n'ont pas seulement un très grand intérêt théorique, mais aussi une grande importance pratique. En effet, ces recherches ont démontré que la séro-réaction de Widal dans sa forme habituelle (Widal-Standard) ne donne de résultats positifs, pour la fièvre typhoïde, qu'en présence de l'agglutinine H. Or, il y a la possibilité d'infections par le type O du bacille d'Eberth. De plus, Félix a constaté que chez les vaccinés avec le vaccin T.A.B. on ne trouve que l'agglutinine H. Enfin, les agglutinines O apparaissent dans le sang des typhiques le plus souvent 7 à 15 jours avant les agglutinines H. Tout ceci représente une cause d'erreur très grave pour le séro-diagnostic de Widal. D'après Robertson et Yu (1935), le pourcentage d'erreurs serait d'environ 20 %. « Dans les cas suspects, où la séro-réaction de Widal pratiquée avec le bacille du type H est négative, la mise en évidence des agglutinines anti-O reste le seul moyen biologique de diagnostic qui peut confirmer l'existence d'une infection typhique » (Dujarric de la Rivière et Kossovitch, 1937).

Félix et Robertson (1928), Robertson et Félix (1930), Weinberg, Davesne et Haber (1932) ont démontré l'existence des antigènes H et O chez les anaérobies (*V. septique*, *B. tetani*).

Signalons, enfin, la réaction d'immobilisation des cils par le sérum spécifique, préconisée par Mandelbaum (1932). Cette immobilisation est indépendante de l'agglutination proprement dite. L'auteur s'en est servi pour la différenciation des types sérologiques du groupe des bacilles typhiques-paratyphiques (groupe *Salmonella* d'après la nomenclature actuelle). La réaction se fait en goutte pendante, sous le microscope.

Cils géants

Avant de terminer cette « Introduction », nous allons traiter très brièvement la question des « cils géants » ou « cils composés » ou encore « tresses libres » (« freie Geisselzöpfe » des auteurs allemands).

Ces « cils géants » formés par des tresses de cils détachés des corps bactériens, dépassent souvent de beaucoup les dimensions de ceux-ci. Leur forme spiralée peut parfois prêter à confusions.

C'est Loeffler (1890) qui les a observés pour la première fois chez le *B. chauvoei*. Ses observations ont été confirmées par Pfeiffer (1893), de même par Sakharoff (1893) qui a observés les cils géants également chez un bacille aérobie isolé des selles d'un cholérique et désigné par lui sous le nom de *B. asiaticus*. Malvoz (1902) a observé des cils géants dans une culture du *B. coli*. Il préfère l'expression « cils composés ».

Bien des auteurs ont ensuite observé ses « tresses libres ». Nous n'en signalerons que quelques-uns. Zettnow (1908) a démontré que la description de « *Spirochaeta polyspira* » de Wolff reposait sur une erreur : il ne s'agissait, en réalité, que de « cils géants ». L'auteur avoue ne pas connaître les conditions dans lesquelles il y a formation abondante de tresses libres ni savoir pourquoi ces tresses se déploient tantôt facilement, tantôt difficilement. Pour Gauducheau (1911), la formation des cils géants se produirait sous l'action d'un processus bactériolytique.

CHAPITRE PREMIER

Influence des conditions de culture sur la mobilité des bactéries

a) *Age des cultures.* Le plus souvent, on trouve comme indication qu'il faut employer, soit pour la recherche de la mobilité *in vivo*, soit pour la recherche de cils dans des préparations colorées, des « cultures jeunes ». Souvent, l'âge est précisé ; on indique alors des cultures âgées de 18 à 24 heures. Nous trouvons cependant chez quelques auteurs des indications sur des microbes ayant encore gardé leurs cils dans des cultures beaucoup plus âgées. Ainsi, Mereshkowsky (1909) aurait observé un bâtonnet mobile dans une préparation de *B. typhi spermophilorum*, provenant d'une culture gardée pendant 8 ans à la température du laboratoire et à l'abri de la lumière. Hinterberger (1904) a constaté la présence de cils chez le *B. proteus* dans une culture âgée de 5 mois et chez le *Micrococcus agilis* dans une culture âgée de 10 mois 1/2.

Les données de ces auteurs nous paraissent toutefois un peu sujettes à caution. Mereshkowsky n'a trouvé qu'un seul cil dans une de ces préparations, et d'autre part les conditions dans lesquelles se trouvait la culture n'excluent pas la possibilité d'une contamination. Quant à Hinterberger, il prétend avoir mis en évidence les cils, mais, en goutte pendante, il n'a pu constater aucune mobilité. Comme, d'autre part, les cils du *Micrococcus agilis* étaient d'une longueur extraordinaire, il pourrait bien s'agir ici de « pseudocils » (« Schleimgeisseln » de Zettnow) dont nous parlerons plus loin, dans le chapitre consacré à l'étude de la mobilité chez les *Coccaceae*.

Chez d'autres auteurs, dont les résultats sont hors de doute, nous trouvons des données fort intéressantes. Ainsi,

Hélène Rordorf (1921) a réussi à faire de belles colorations de cils (par la méthode de Casares-Gil) du *V. cholerae*, du *B. proteus*, du *B. typhi*, du *B. paratyphi B* et du *B. pyocyaneum*, en se servant de cultures en bouillon âgées de 1 an. Simonin (1907) a également pu colorer les cils en utilisant des cultures âgées sur gélose inclinée. Par exemple, en se servant de la méthode de Valenti, il a réussi, entre autres, à colorer les cils des microbes suivants: *B. subtilis* en culture de 20 jours, *B. pyocyaneum* en culture de 20 jours, *B. vulgare* en culture de 30 jours et *B. coli* en culture de 55 jours. Cependant, les cils étaient, d'après cet auteur, dans la plupart des cas, de forme granuleuse et détachée du corps bactérien. Dans un seul cas l'auteur a obtenu la coloration de cils non granuleuse et en parfait état : c'était la culture du *B. coli* âgée de 55 jours.

Si intéressants que soient ces faits, il n'en est pas moins vrai que dans des cultures âgées on n'arrive très souvent à mettre en évidence ni la mobilité, ni les cils. D'après nos observations personnelles, c'est même le plus souvent ainsi. Il est donc évident que, lorsqu'on se trouve en présence d'un microbe dont on ne sait pas s'il est mobile et cilié ou non, il est non seulement préférable, mais absolument indispensable de l'examiner dans les conditions les plus favorables pour la mobilité et pour le développement et la conservation des cils. Ces conditions sont réalisées dans des cultures jeunes.

Il faut donc, en effet, examiner des « cultures jeunes ». Cependant, cette expression, employée très souvent, n'est que bien relative. Une culture de 3 à 4 heures du *B. bifermentans* est jeune, une culture de 8 heures du même microbe ne l'est souvent plus, surtout du point de vue de la mobilité. Par contre, une culture de 18 heures du *B. proteus*, du *B. oedematiens*, etc. est encore jeune.

b) *Influence de la température.* — La température de l'incubation joue également un grand rôle en ce qui concerne la mobilité et la présence de cils. Signalons tout d'abord un cas d'inhibition très nette du développement des cils, et par conséquent de toute mobilité, par la température de l'étuve: le coccobacille de Malassez et Vignal (*B. pseudotuberculosis rodentium* A. Pfeiffer) est, d'après Kossel et Overbeck (1902), Burekhardt (1914), Arkwright (1927), Weitzenberg (1935),

Paul Boquet (1936, 1937), mobile à 18-20°, mais absolument immobile et dépourvu de cils en cultures obtenues à 37° (Toutefois, Burckhardt a observé dans la première série de ses expériences 2 - 3 cils sur quelques milliers de bacilles en cultures à 36°. Il a refait ses expériences et a trouvé une absence complète de cils en cultures obtenues à 36°. Arkwright a observé une seule fois des éléments mobiles dans une culture de ce microbe, obtenue à 37°).

Günther a constaté qu'un microbe isolé du lait par Obermüller et ayant tous les caractères du bacille typhique, se distinguait de celui-ci par le fait qu'il était très mobile en cultures obtenues à la température du laboratoire, alors qu'il était immobile à 38°. Mironesco (1899) a repris l'étude de ce microbe et il a obtenu les résultats suivants : à 10°, ce bacille pousse lentement et est très mobile ; à 23°, il pousse bien et est très mobile ; à 30°, il y a des formes mobiles et des formes immobiles ; à 38°, il n'y a aucune mobilité, même en culture de 4 heures. En pratiquant des colorations, l'auteur obtient des résultats concordant parfaitement avec ses observations faites *in vivo* : en cultures obtenues à 10° et à 23°, il y a des cils, tandis que les cils manquent lorsque l'incubation a été effectuée à 38° (cultures de 24 heures et de 4 heures).

Si, dans les exemples cités, les microbes étaient absolument immobiles et non ciliés en cultures obtenues à 36° - 38°, dans la plupart des cas il s'agit plutôt d'une action défavorable de la température de l'étuve sur la mobilité : les microbes sont mobiles aussi bien à 37° qu'à la température du laboratoire, mais en cultures à 37° le vieillissement des bactéries et la perte des cils et de la mobilité se produisent beaucoup plus rapidement qu'à la température du laboratoire. Ce fait a d'ailleurs été signalé déjà par Matzuschita (1901). La vitesse de ce vieillissement est très différente suivant l'espèce microbienne. Il y a parfois même des différences d'une souche de la même espèce à l'autre.

Nous allons exposer ici, avec quelques détails, le cas du *B. bifermentans*, qui nous intéresse particulièrement du fait que ses cultures vieillissent rapidement à 37°, et que, pour cette raison, il a été considéré pendant longtemps comme immobile et non cilié, et parce que nous avons nous-même contribué à l'étude de sa mobilité et à la mise en évidence de

ses cils pérित्रiches très nombreux.

Le *B. bifermentans*, microbe anaérobie, a été découvert par Tissier et Martelly (1902) qui l'ont décrit comme absolument immobile. Depuis, ce microbe, bien qu'examiné par de nombreux bactériologistes, a été, pendant de longues années, toujours décrit comme immobile. En 1922, Hall a décrit, sous le nom de *B. centrosporogenes*, un bacille qu'il considérait comme une nouvelle espèce et qui ne se distinguait du *B. bifermentans* que par le fait de sa mobilité. En cultures de 24 heures obtenues à 37°, les deux microbes seraient immobiles. Par contre, en cultures de 8 heures à 37°, le *B. centrosporogenes* serait mobile, tandis que le *B. bifermentans* resterait toujours immobile. *Sturges et Drake* (1928 et 1929) ont examiné en tubes capillaires scellés, 21 souches de ces microbes (*B. bifermentans* et *B. centrosporogenes*) en se servant de « cultures jeunes » (ces auteurs ne précisent pas l'âge de celles-ci). Ils ont constaté la mobilité de toutes les souches examinées. Dans leur deuxième publication (1929), *Drake et Sturges* déclarent d'ailleurs que la séparation de ces deux espèces n'est plus justifiable. *Zeissler* (1930) a examiné également nombre de souches du *B. bifermentans* (dans le travail de cet auteur que nous avons pu consulter, nous n'avons trouvé aucune indication concernant les conditions de culture) et il les a trouvées toutes mobiles et ciliées. Cependant, on continuait à considérer ce microbe, conformément à la description de Tissier et Martelly, comme absolument immobile et non cilié (d'après *Zeissler*, c'est surtout l'opinion des bactériologistes français et anglais). Ce n'est que dans un livre de *Glotova* (1935) consacré aux microbes anaérobies que nous trouvons ensuite le *B. bifermentans* décrit comme mobile. Cependant, la valeur scientifique de ce témoignage est fortement diminuée par le fait assez déconcertant que, d'après cet auteur, ce microbe serait mobile, mais dépourvu de cils.

Nous avons repris l'étude du *B. bifermentans* afin de vérifier les résultats obtenus par les auteurs et pour essayer de trouver les causes de ce désaccord. Comme matériel, nous nous sommes servis de 10 souches du *B. bifermentans* que nous avons trouvées dans la collection de M. Weinberg. Ayant constaté que ce microbe donne, en bouillon Vf glucosé à 2 p. 1.000, à 37° une culture très abondante avec trouble

homogène du milieu déjà après 2 - 4 heures (à condition toutefois que la culture ayant servi comme point de départ soit également plus ou moins jeune) et que, d'autre part, il se forme ensuite très rapidement (en quelques heures) un dépôt fortement visqueux avec éclaircissement du milieu, nous avons procédé de la façon suivante (Levenson 1936). Nous avons utilisé des cultures en bouillon Vf âgées de 3-4 heures obtenues à 37° que nous avons examinées en tubes capillaires scellés (procédé de Dujardin-Beaumetz). Les dix souches se sont toutes montrées, dans ces conditions, fortement mobiles. Une des raisons pour lesquelles les différents auteurs ont eu des difficultés à constater la mobilité du *B. bif fermentans* était donc trouvée : c'était l'âge des cultures. Etant donné que le *B. bif fermentans* est relativement peu exigeant du point de vue de l'anaérobiose, nous nous sommes ensuite demandé si ce désaccord ne pouvait s'expliquer également par le fait que certains chercheurs n'ont peut-être pas pris la précaution d'examiner leurs cultures en tubes capillaires scellés, c'est à-dire dans les conditions les plus favorables pour la recherche de la mobilité des microbes anaérobies. Nous avons donc examiné, dans une nouvelle série d'expériences, toutes nos souches de *B. bif fermentans* dans des conditions bien défavorables du point de vue de l'anaérobiose: entre lame et lamelle, sans même luter les bords de la préparation à la paraffine. Les cultures étaient du même âge que dans la première série d'expériences. Les résultats étaient les suivants : nous avons pu constater facilement la mobilité très nette de 7 souches; pour 2 souches, elle était douteuse et, enfin, pour une souche nous n'avons observé, dans ces conditions défavorables, aucune mobilité. Si, donc, la technique employée joue sans aucun doute un rôle très important, il n'en est pas moins évident que c'est surtout à cause du vieillissement très rapide de ses cultures à 37° que la mobilité très prononcée du *B. bif fermentans* échappa pendant si longtemps à l'attention de la plupart des observateurs. En procédant ensuite à la coloration des cils à partir de cultures âgées de 3 à 4 heures, nous avons pu mettre en évidence la présence de cils péritriches très nombreux chez toutes les souches examinées (nous parlerons plus loin, avec tous les détails nécessaires, de la technique de la coloration mise au point par nous et dont nous nous sommes

servi pour toutes nos recherches). Signalons, en passant, que nous avons eu plus tard l'occasion d'examiner une souche du *B. centrosporogenes* que M. Hall a eu l'obligeance de faire parvenir à M. Weinberg. Nous n'avons pu trouver aucune différence entre le *B. bifermentans* et le *B. centrosporogenes*. Si le vieillissement de la culture du *B. centrosporogenes* se produit, peut-être, un peu plus lentement, ce fait n'a, à notre avis, aucune importance, car parmi nos 10 souches du *B. bifermentans* nous avons observé, à ce point de vue, également quelques petites différences individuelles.

Enfin, tout dernièrement (1937), Clark et Hall ont publié les résultats de leurs plus récentes recherches sur ce sujet. En étudiant 30 souches du *B. bifermentans* et 45 souches du *B. centrosporogenes*, ces auteurs ont constaté cette fois, contrairement aux affirmations de Hall en 1922, que *toutes* les souches du *B. bifermentans* sont mobiles. La prétendue immobilité étant le seul caractère différentiel, les auteurs abandonnent le nom de *B. centrosporogenes* et réunissent le tout dans l'espèce *B. bifermentans*. De plus, ces auteurs ont fait une observation extrêmement intéressante: cultivé à 20°, le *B. bifermentans* reste mobile jusqu'à 96 heures. Cette constatation nous paraît d'une importance capitale, car elle justifie notre conception, d'après laquelle l'âge d'une culture, du point de vue de la mobilité, ne peut être exprimé qu'en fonction de la température.

Chez la plupart des autres microbes le vieillissement de la culture ne se produit pas avec une telle vitesse. Néanmoins, lorsqu'on se trouve en présence d'un microbe que l'on veut examiner du point de vue de la mobilité, il faudra toujours tenir compte de ce fait. On commencera donc toujours par l'examen de cultures jeunes ; jeunes en fonction de la température et des différences de vitesse de développement que l'on observe entre les espèces et parfois même, pour la même espèce microbienne, d'une souche à une autre.

Après avoir constaté la mobilité et la présence de cils, on pourra évidemment procéder à l'étude des cultures plus âgées. De telles recherches sont même parfois très intéressantes, car elles nous montrent que certaines espèces gardent leur mobilité et leurs cils pendant longtemps, tandis que d'autres espèces ne sont ciliées que pendant un laps de temps

assez court. Parfois on ne trouve, dans des cultures très jeunes, que des bâtonnets courts et des cils encore peu développés, tandis que dans des cultures plus âgées on trouve, à côté des bâtonnets courts, de longs filaments entourés d'une quantité innombrable de cils. Tel est, par exemple, le cas du *B. proteus*.

c) *Mobilité et sporulation*. — Si, le plus souvent, on n'observe la mobilité que chez les formes végétatives, nous trouvons néanmoins chez les auteurs quelques indications sur la mobilité des bactéries à l'état de sporulation. Ainsi, Klein (1889) aurait observé ce phénomène chez un microbe décrit par lui sous le nom de *B. leptosporus*. Weinberg et Seguin (1918) et Weinberg, Nativelle et Prévot (1937) signalent le même fait pour le *B. histolyticus*. Chez les mêmes auteurs nous trouvons des figures représentant des formes à la fois sporurées et ciliées du *V. septique* et du *B. sporogenes*. Des recherches très intéressantes ont été faites à ce sujet par Leifson (1931) sur trois espèces microbiennes sporulées : *B. vulgatus*, *B. cereus* et *B. flavus*. A partir de cultures sur gélose âgées d'une semaine, l'auteur préparait des émulsions qu'il chauffait pendant 10 minutes à 70° afin de tuer les formes végétatives qui pourraient y persister encore. Une série de tubes de bouillon était ensuiteensemencée avec ces émulsions ne contenant que des spores. Après 1 heure 1/4, 1 heure 1/2, 1 heure 3/4, 2 heures et 2 heures 1/2, l'auteur prélevait du matériel pour l'examen en goutte pendante et pour la coloration des cils. En procédant de cette façon, l'auteur arrive aux constatations suivantes. Les cils commencent à apparaître déjà pendant la germination de la spore. Ils n'apparaissent pas tous à la fois, mais l'un après l'autre. La mobilité ne devient apparente que lorsqu'il y a déjà au moins 2 à 3 cils. Il va de soi que ces résultats ne sont valables que pour les trois espèces étudiées par l'auteur. De plus, il nous semble que les affirmations concernant le nombre exact des cils sont toujours un peu osées. En outre, Leifson ne donne, à l'appui de ces affirmations, que des dessins schématiques et non des photomicrographies, beaucoup plus convaincantes.

d) *Rôle de la nature et de la composition du milieu, de son pH et d'autres facteurs*.

Le choix du milieu de culture, sa composition, son pH etc.

peuvent également jouer un rôle très important du point de vue de la mobilité et du développement des cils. Ainsi, d'après Matzuschita (1901) les bactéries perdent très rapidement leur mobilité en cultures sur pomme de terre ; la mobilité persiste plus longtemps en cultures sur gélose ; elle peut être observée le plus longtemps en cultures en bouillon. Hélène Rordorf, dont nous avons déjà cité les résultats des colorations à partir de cultures en bouillon âgées d'un an, a observé que la mise en évidence des cils se fait, dans ces conditions, aussi aisément que lorsqu'on se sert de cultures jeunes sur gélose.

D'après nos observations personnelles (et nous ne sommes pas les seuls à être de cet avis) le milieu de choix pour la mise en évidence de la mobilité, surtout dans des cas difficiles, est l'eau de condensation de la gélose inclinée.

Lorsqu'il s'agit de milieux solides, le degré de leur humidité n'est pas sans importance. De Rossi (1903), puis Hinterberger (1904) ont déjà attiré l'attention sur ce fait.

La réaction du milieu, l'addition de glucides, de sérum, etc., tout ceci peut aussi jouer un rôle dans l'étude des questions qui nous intéressent ici. L'influence de ces facteurs étant différente suivant l'espèce bactérienne, nous nous contentons de les signaler ici, pour y revenir plus loin.

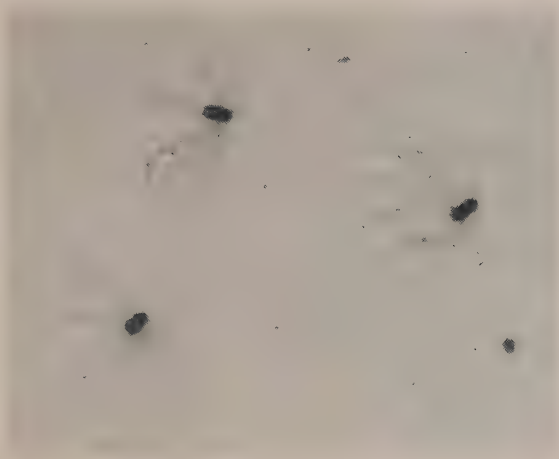


FIG. 1. — *B. botulinus* type A. Culture de 18 heures. Coloration des cils par le procédé de Casares-Gil, modifié par S. Levenson. Grossissement: 1200. Photo Jeantet, Institut Pasteur.

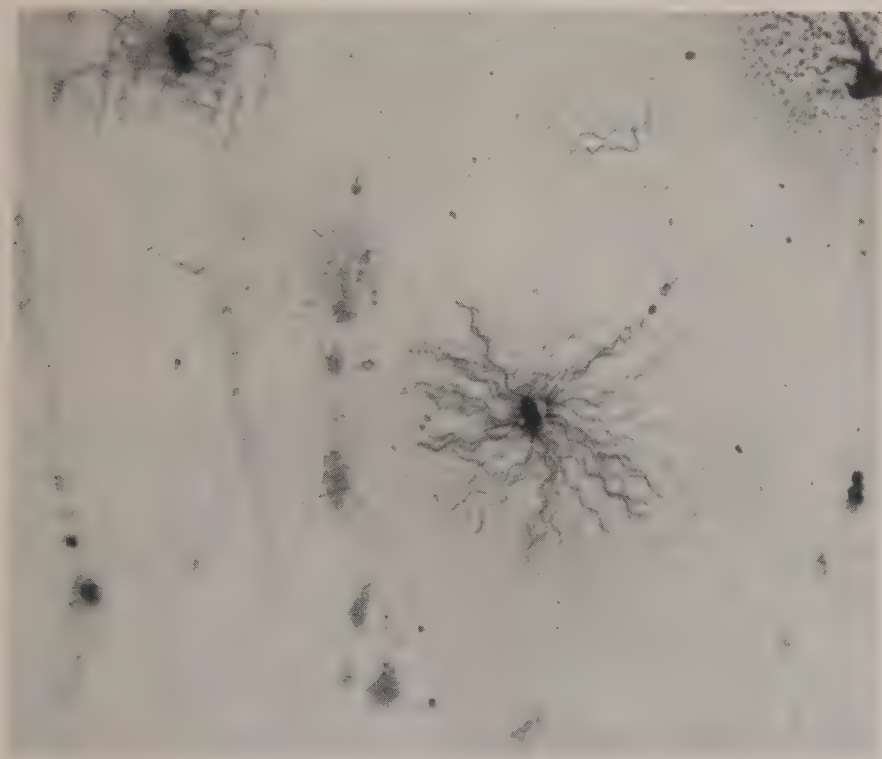


FIG. 2. — *B. botulinus* type B. Culture de 18 heures. Coloration des cils par le procédé de Casares-Gil, modifié par S. Levenson. Grossissement: 1800. Photo Jeantet, Institut Pasteur.

CHAPITRE II.

Mise en évidence de la mobilité des bactéries

Généralités. — Si, dans certains cas, la constatation de la mobilité d'une espèce ou d'une souche microbienne se fait avec la plus grande facilité, on se trouve souvent, dans d'autres cas, en présence de difficultés assez considérables. Ce n'est qu'avec une bonne technique et en tenant compte de toutes les causes d'erreurs possibles qu'on peut être sûr des résultats de l'observation, résultats qui, souvent, sont de la plus grande importance pour l'identification d'un microbe.

Il convient donc de signaler tout d'abord ces causes d'erreurs. Lorsqu'on examine une culture bactérienne *in vivo*, on observe très souvent le mouvement brownien (mouvement moléculaire), qui, comme on le sait, n'a rien de commun avec la mobilité active des bactéries. Or, si le mouvement brownien est faible dans la plupart des cas, il est parfois tellement vif qu'il peut être très facilement confondu avec une mobilité active, la seule qui nous intéresse ici, le mouvement brownien n'étant pas un phénomène vital. Il est fort probable sinon sûr que certains observateurs ont été induits en erreur justement par un mouvement brownien intense. Nous nous contentons de donner ici quelques exemples. On sait qu'Arloing (1898) en examinant ses « cultures homogènes » du bacille de Koch obtenues par le procédé d'Arloing et Courmont (1898), arrive à la conclusion suivante : « Dans les cultures en bouillon et à la sortie de l'étuve, les bacilles de la tuberculose peuvent

être doués de mouvements très agiles; conséquemment, l'immobilité n'est pas pour eux une caractéristique absolue, ainsi qu'on l'admet généralement ». Bendix (1900) hésite à se prononcer d'une façon définitive sur la nature de ces mouvements. Par contre, Fraenkel (1900) nie d'une façon catégorique l'existence d'une vraie mobilité chez ce microbe, tout en admettant que, dans les « cultures homogènes » d'Arloing et Courmont, on observe un mouvement brownien très fortement accéléré par des causes inconnues. Et Gotschlich déclare encore en 1929 que la vraie nature des mouvements du bacille de Koch dans les cultures homogènes d'Arloing et Courmont reste « mystérieuse » (« rätselhaft »). Les affirmations d'Ellis concernant la mobilité de *toutes les Coccaceae*, dont nous parlerons avec les détails nécessaires plus loin, sont sûrement dues, du moins en partie, à une fausse interprétation des phénomènes observés. Nous mêmes, en examinant récemment des cultures en bouillon d'une souche mobile authentique du bacille typhique (souche H 901 de Félix) avons d'abord hésité à nous prononcer sur le point de savoir s'il s'agissait d'une mobilité active ou du mouvement moléculaire, tandis que dans l'eau de condensation en culture du même âge (15 heures à 37°) la mobilité active était très nette. Ce n'est qu'après 3 passages successifs que la mobilité active de cette souche, reçue de Félix en gélose en piqûre, est devenue très nette en bouillon.

On ne peut être sûr qu'il s'agit de la mobilité active que lorsqu'on observe un vrai déplacement des bactéries. Il est important de constater ou bien la sortie des bactéries du champ de vision et leur déplacement dans des directions différentes, ou bien, pour le moins, leur déplacement réel par rapport à des particules immobiles.

La mobilité, souvent très rapide, peut être parfois extrêmement lente. Il faut donc bien se garder de déclarer trop vite que le microbe en question est immobile. Nous avons eu l'occasion d'observer cette locomotion à peine décélable par exemple chez bien des souches de *B. oedematiens* et chez d'autres espèces bactériennes. Dans des cas douteux (soit pour éviter la confusion avec le mouvement brownien, soit à cause d'une mobilité très faible) il est absolument indispensable de pratiquer la coloration des cils.

Procédés directs

A. — Mise en évidence de la mobilité des bactéries aérobies (strictes ou facultatives)

a) Examen en goutte pendante.

Nous déconseillons très vivement le procédé, employé bien souvent encore maintenant, de l'examen entre lame et lamelle. Il y a, dans ce procédé, toujours le danger d'être induit en erreur par les courants dans le liquide à examiner. Nous ne nous sommes servi de ce procédé que pour nos expériences, déjà décrites plus haut, sur le *B. bifermentans*, dans lesquelles nous avons voulu, sciemment, nous mettre dans les conditions d'observations les plus défavorables.

Nous nous servons toujours du procédé, d'ailleurs classique, de la goutte pendante, en employant des lames à concavités. Pour éviter la dessiccation de la goutte à examiner, on peut luter la préparation à la paraffine ou bien se servir de l'huile de vaseline, etc. Au lieu de ces substances, nous employons toujours le glycérol. La fermeture hermétique au moyen du glycérol se fait aussi bien qu'à l'aide de la paraffine ou de l'huile de vaseline, et le procédé que nous préconisons a cet avantage que les lames peuvent être très facilement lavées après l'emploi, le glycérol étant miscible avec l'eau.

Nous procédons de la façon suivante: nous étalons, tout autour de la concavité de la lame, une mince couche de glycérol sur laquelle nous appliquons la lamelle portant la goutte de culture à étudier. En exerçant une légère pression sur les bords de la lamelle, on obtient une fermeture hermétique de la « chambre humide ». La préparation obtenue ainsi peut être examinée soit avec un système optique sec, soit avec l'objectif à immersion. Nous nous servons souvent même de l'objectif fort à immersion (1/18 de Stiassnie).

Comme milieu de culture pour la mise en évidence de la mobilité, nous utilisons soit du bouillon (additionné, le cas échéant, de glucides, de sérum, d'ascite, etc.), soit de l'eau de condensation de gélose inclinée. Celle-ci est même notre milieu de choix. La gélose doit être suffisamment riche en eau de condensation. Bien des auteurs ont déjà insisté sur ce fait, entre autres Lasseur, Vernier, Dupaix et Zahl (1930),

Boecker et Kauffmann (1931), Koblmüller (1935), etc. Pour éviter la dessiccation trop rapide de la gélose, il est avantageux de ne pas incliner d'emblée tous les tubes préparés de gélose, mais de garder une provision de gélose en culot. Au fur et à mesure des besoins, on liquéfie la gélose et on la laisse se solidifier en inclinant les tubes.

b) *Procédé de Levinthal* (1930). — Dans ce procédé, on pratique l'examen des colonies sur la surface de la gélose en boîtes de Pétri. On procède de la façon suivante: on met sur la gélose le fragment d'un fin tube capillaire. Une lamelle est ensuite placée dessus, de façon à ce qu'elle repose d'un côté sur le tube capillaire, de l'autre sur la colonie à examiner. On introduit une goutte d'eau dans l'angle formé par la lamelle et la gélose et on examine au microscope à travers la gélose. Le procédé de Levinthal est préconisé entre autres par Boecker et Kauffmann (1931) et par Koblmüller (1935).

c) *Procédé de Koblmüller* (1935). — Ce procédé, fort intéressant, n'est qu'une des applications du micromanipulateur (Plattenmanipulator) de Koblmüller et Vierthaler (1933). Il consiste dans l'examen d'une gouttelette de l'eau de condensation apparaissant à la surface de la gélose lorsqu'on touche celle-ci avec l'aiguille du micromanipulateur. Il ne peut être utilisé que par les travailleurs disposant d'un micromanipulateur de Koblmüller et Vierthaler.

B. — Mise en évidence de la mobilité des anaérobies stricts

Si, dans certains cas, on arrive à mettre en évidence la mobilité des microbes anaérobies peu exigeants au moyen des procédés que nous venons de décrire, il est absolument nécessaire, pour être sûr des résultats, d'employer des procédés spéciaux permettant aux microbes de rester, pendant l'observation, dans des conditions d'anaérobiose.

a) *Procédé des tubes capillaires scellés*. — C'est Dujardin-Beaumetz qui, le premier, a imaginé et mis en pratique ce procédé devenu classique. Nous ne nous servons, pour les anaérobies, que de ce procédé qui est le plus simple et donne d'excellents résultats. Dans une pipette très finement effilée on aspire un peu de culture, on scelle, au moyen de la veilleuse du bec Bunsen, la partie capillaire de l'effilure juste en

dessous ensuite au-dessus de la colonne de liquide, on fixe sur une lame ce tube capillaire au moyen de paraffine, ou, ce que nous préférons, au moyen de plastiline et on examine au microscope. Nous nous servons pour ces examens soit d'un objectif à sec, soit de l'objectif à immersion 1/12.

Ajoutons que Weinberg et Séguin (1918), ayant éprouvé de grandes difficultés pour mettre en évidence la mobilité de quelques anaérobies, ont eu également l'idée d'utiliser des tubes capillaires, sans savoir que ce procédé avait déjà été utilisé par leur collègue Dujardin-Beaumetz qui n'en a fait mention dans aucun de ses travaux.

Sturges (1928) préconise un procédé basé sur le même principe que celui de *Dujardin-Beaumetz* et n'en différant que par la forme des tubes. En effet, cet auteur emploie des tubes capillaires aplatis dont les propriétés optiques seraient supérieures à celles des tubes cylindriques. Cependant, le procédé de *Dujardin-Beaumetz* est incontestablement le plus simple et il nous donne toujours pleine satisfaction. Aussi ne voyons-nous aucune raison de compliquer le travail.

b) *Procédé de M. Van Riemsdijk* (1922). — Ce procédé est basé sur un principe tout à fait différent. Il s'agit ici, en effet, d'un dispositif permettant l'examen des microbes anaérobies en goutte pendante. L'anaérobiose dans la chambre humide de *Van Riemsdijk* est réalisé par le mélange de pyrogallol et de KOH. Ce procédé, que l'auteur désigne comme un procédé simple, est, à notre avis, très compliqué, et, d'autre part, nous n'y voyons aucun avantage comparativement au procédé vraiment très simple et pratique de *Dujardin-Beaumetz*. Aussi nous contentons-nous de signaler ici ce procédé, en renvoyant pour les détails au travail original.

Mise en évidence indirecte de la mobilité. — A côté des procédés que nous venons de décrire et au moyen desquels on voit au microscope directement et individuellement la locomotion des bactéries, il y en a d'autres, que l'on peut appeler des procédés « indirects » ou « macroscopiques » (*Kobl-müller* 1935), car il s'agit ici non pas de l'observation des cellules bactériennes, mais de la migration de la culture tout entière (en réalité, il s'agit évidemment de la migration des éléments mobiles de la culture).

C'est un phénomène bien connu et même souvent redouté

de tout bactériologiste que le *B. proteus*, ensemencé sur gélose pousse en envahissant toute la surface du milieu. On pourrait considérer ce phénomène comme un point de départ pour les « procédés indirects ». Cependant il s'agit ici d'un cas tout à fait spécial, et les procédés que nous allons envisager maintenant sont destinés à la constatation de la migration des éléments mobiles dans des conditions différentes.

Hitchens (1921) se sert de milieux semi-solides (bouillon gélosé à 3 p. 1.000 et en dessous). L'ensemencement se fait en piqûre. Lorsqu'il s'agit de microbes mobiles, le milieu est progressivement troublé à partir de la piqûre vers la paroi du tube. Par contre, les microbes immobiles ne se développent que le long de la piqûre.

Ce procédé a été employé par bien des auteurs que nous ne pouvons pas énumérer ici. Disons toutefois que *Dimitrijevic-Speth* (1937) se sert des milieux semi-solides pour la différenciation des microbes anaérobies. Ainsi, le *B. perfringens* qui est le seul microbe immobile parmi les anaérobies pathogènes gram-positifs, serait facile à reconnaître par ce procédé. L'intensité de la migration serait, d'après cet auteur, différente pour les différentes espèces anaérobies.

Enfin, signalons encore quelques procédés qui ont été préconisés pour la sélection des éléments mobiles d'une culture qui n'en est pas riche ou bien pour la séparation des espèces mobiles des espèces immobiles.

Kuhn et Sternberg (1932) ont indiqué le procédé suivant. Un petit tube (tube de *Uhlenhuth*) est introduit dans un tube à essai. Les deux tubes contiennent du milieu de culture (bouillon), mais les bords du petit tube dépassent le niveau du bouillon dans le grand tube. Une bandelette de papier-filtre plonge par l'une de ses extrémités dans le grand tube, par l'autre dans le petit tube. L'ensemencement se fait soit dans le grand tube, soit dans le petit tube. Il se produit alors une migration des éléments mobiles, par l'intermédiaire du papier-filtre, du milieu ensemencé dans le milieu non ensemencé.

S'agit-il là vraiment d'une migration active des éléments mobiles ? Cette question nous paraît ne pas être encore tranchée d'une façon définitive. *Friedberger* (1919) qui a effectué des recherches très intéressantes sur ce sujet bien avant *Kuhn*

et Sternberg en se servant également du papier-filtre, en a fait un procédé de séparation dans des cultures mixtes du bacille typhique du *B. coli*. Il le désigne sous le nom de méthode d'ascension par capillarité (« Kapillarsteigmethode »). Il a étudié, par ce procédé, le comportement de bien d'autres microbes. En se basant sur ses recherches approfondies, il déclare formellement que la mobilité des bactéries ne joue aucun rôle dans cette ascension. Il s'agirait en réalité d'un phénomène de capillarité. D'autre part, il y aurait un pouvoir électif d'adsorption du papier-filtre vis-à-vis des différentes espèces microbiennes. Moins ce pouvoir d'adsorption vis-à-vis d'une espèce donnée est fort, plus rapide est son ascension par capillarité. Friedberger donne, à l'appui de sa conception, entre autres, les exemples suivants: Ni la *Sarcina agilis*, ni la *Sarcina lutea* ne montent dans ces conditions, et cependant la première est vivement mobile, la deuxième immobile. Les bacilles typhiques dont la mobilité est supprimée artificiellement par culture en milieux défavorables, montent au même niveau que les bacilles typhiques très mobiles.

Signalons, pour terminer, que Buonomini (1934) aurait obtenu par des migrations successives à travers des bougies poreuses une augmentation remarquable de la mobilité de deux souches du *B. coli* qui, auparavant, n'étaient que faiblement mobiles.

CHAPITRE III.

Mise en évidence des cils bactériens

Comme nous l'avons déjà dit, c'est Ehrenberg qui a le premier observé les cils. Cet auteur, aussi bien qu F. Cohn, Dallinger et Drysdalle, Warming, a fait ses observations en se servant du microscope à fond clair. Mais il s'agit ici d'observations plus ou moins exceptionnelles et de microbes à cils relativement volumineux. Ces recherches représentent donc plutôt un intérêt historique sans nous donner des procédés pratiques.

A. — Mise en évidence des cils au moyen de l'ultramicroscope.

Nous ne donnons ici que les points essentiels de l'emploi de l'ultramicroscope pour la mise en évidence des cils. Nous serons obligés de revenir sur ce sujet à la fin de ce chapitre, en traitant le problème de l'interprétation des résultats obtenus soit à l'aide de l'ultramicroscope, soit par la coloration des cils.

Karl Reichert (1909) introduit l'observation sur fond noir pour l'étude des cils. Il fait d'abord, en commun avec Zettnow, la constatation que le premier ultramicroscope de Siedentopf et Zsigmondy ne permet pas de voir les cils. Par contre, on y arrive à l'aide du condensateur à miroir (« Spiegelkondensor ») de la maison C. Reichert à Vienne (pour écarter un malentendu possible, notons que c'est par une simple coïncidence que K. Reichert et la maison C. Reichert portent le même nom).

Si, en examinant certains microbes possédant de gros cils (vibrions), l'auteur déclare être parvenu à voir les cils même dans l'eau distillée, il n'en est pas de même pour les autres microbes. Les propriétés optiques des milieux ne jouent, d'après K. Reichert, aucun rôle. L'essentiel est la présence, dans le milieu, des substances conduisant à l'enchevêtrement de cils, à la formation de « tresses » (« Geisselzöpfe ») un seul cil étant le plus souvent trop fin pour être vu. Aussi faut-il que le milieu contienne des électrolytes (des sels, tels que les chlorures, bromures, sulfates, nitrates, carbonates, phosphates, etc..., ou des acides faibles tels que les acides acétique, citrique, oxalique, etc.) et, surtout lorsqu'il s'agit de bactéries à cils péritriches, des substances colloïdales (gélose, gélatine, gomme arabique, etc.) Les conditions les plus favorables seraient réalisées dans l'eau de condensation de la gélose, ou mieux encore, dans la gélatine nutritive à 1 p. 100.

F. Neumann (1925-1928) insiste également sur l'avantage, sinon la nécessité de l'emploi du condensateur à miroir (il se sert de celui de Zeiss). En plus, il préconise très vivement l'emploi d'un objectif à immersion muni d'un diaphragme iris (Reichert a fait ses recherches avec un objectif à sec. car à son époque l'emploi des objectifs à immersion pour l'ultramicroscope n'était pas encore connu). Dans ses travaux, forts intéressants, surtout dans sa publication de 1928, dont nous ne pouvons pas donner ici tous les détails, l'auteur précise les conditions de l'examen des cils sur fond noir. D'après lui, la visibilité des cils ne dépend que de leur épaisseur. L'épaisseur minima pour la visibilité serait de $0\mu,05$ (c'est l'épaisseur des cils du *V. cholerae*). Les cils de cette épaisseur ou plus gros encore seraient visibles dans n'importe quel milieu. Par contre, les cils plus fins ne peuvent être vus, à l'ultramicroscope, que lorsqu'il y a formation de tresses de cils. Dans ce cas, surtout lorsqu'il s'agit de cils péritriches, il faut se servir de milieux visqueux. L'auteur se sert d'un bouillon additionné de gomme arabique (5 à 10%, le plus souvent 5%).

D'après Neumüller (1927) le condensateur « paraboloïd » de Zeiss donnerait d'aussi bons résultats que le condensateur à miroir de Leitz. Des résultats encore supérieurs seraient obtenus par l'emploi du condensateur « Cardioid » de Zeiss.

Les affirmations de Neumüller concernant le condensateur « paraboloid » sont contestées par Neumann.

Wei (1936) additionne ses milieux, pour l'examen des cils bactériens, non pas de gomme arabique, mais de gomme d'acacia (*acacia alba*). La concentration de gomme d'acacia dans le bouillon varie suivant l'espèce microbienne à étudier: pour le *B. proteus* l'auteur emploie une solution de 7 à 10 % (incubation à 21°), pour le *B. typhi* et le *B. subtilis* (incubation à 37°) plus de 50 % de gomme d'acacia. Les cultures sont examinées après une incubation de 18 heures. Comme les auteurs précités, Wei se sert de la lumière artificielle (lampe « Monia » de Leitz pour les observations et lampe à arc pour la photomicrographie).

A. Pijper (1930-1931) a choisi, pour ses recherches au moyen de l'ultramicroscope, une voie tout à fait différente. Etant donné que, d'après lui, les substances telles que la gomme arabique exercent une action nuisible sur les bactéries et leurs cils, il a d'abord utilisé du bouillon additionné de 2% de mucine. N'étant pas satisfait des résultats obtenus, il a continué ses expériences et il est parvenu à mettre au point un procédé qui lui permet d'observer et de photographier les cils bactériens, sur fond noir, en se servant de cultures *en bouillon nutritif ordinaire*. Nous reviendrons plus loin sur les résultats obtenus par Pijper. Un des points essentiels à retenir est le fait que, contrairement à tous les auteurs précités, il observe les cils sans additionner le bouillon d'aucune substance visqueuse. Pour l'éclairage, il s'est d'abord servi de différentes sources de lumière artificielle. Cependant, il a décrit dans sa deuxième publication (1931) un dispositif permettant d'utiliser la lumière solaire pour les examens sur fond noir. C'est le deuxième point à retenir car c'est justement en se servant de cultures en bouillon nutritif ordinaire et en utilisant la lumière solaire que ce chercheur est arrivé aux résultats très intéressants dont nous parlerons à la fin de ce chapitre. Signalons encore que ce procédé ne peut, du moins pour le moment, être employé partout, car, comme l'auteur le dit lui-même, la lumière solaire est sensiblement plus intense en Afrique du Sud à une altitude de 1400 mètres (Pretoria) que dans les conditions dans lesquelles on travaille en Europe. Mentionnons enfin que Pijper emploie le condensateur « Cardioid ».

B. Coloration des cils bactériens.

La mise en évidence des cils étant très importante pour l'étude des bactéries mobiles, il n'y a rien de surprenant que bien des chercheurs aient tenté depuis longtemps de trouver une méthode de coloration des cils.

Comme nous l'avons déjà dit au début de cet ouvrage, c'est R. Koch (1877) qui, le premier, a réalisé la coloration des cils bactériens. A cet effet, il a traité les préparations d'abord avec de l'extrait de bois de campêche et ensuite avec de l'acide chromique.

Il est intéressant, du point de vue historique, de noter que bien des chercheurs ont essayé, après la publication de Koch, de parvenir à la coloration des cils au moyen de colorants usuels. Les résultats de ces tentatives ont toujours été plus ou moins négatifs. Aussi nous contentons-nous d'indiquer ici, à titre documentaire, quelques noms : Trenkmann (1889-1890), Hessert (1894), Bunge (1894), Remlinger (1896), Sames (1898), etc. Si, toutefois, il y avait quelques résultats positifs à noter (par exemple, Trenkmann aurait réussi à colorer faiblement les cils de *Spirillum undula* en utilisant des colorants usuels chauffés à 110°), il s'agissait là de cas exceptionnels ou de gros cils.

Si R. Koch, lui aussi, n'a obtenu que des résultats peu satisfaisants, son mérite n'en reste pas moins grand, car non seulement il a été le premier à colorer les cils, mais ses recherches ont en même temps indiqué la voie à suivre. En effet, on ne peut colorer les cils qu'en employant des procédés spéciaux: il faut mordancer la préparation avant de la colorer (il y a, disons-le en passant, actuellement des procédés dans lesquels le mordantage et la coloration se font simultanément, mais on ne peut pas se passer du mordantage).

La première méthode importante de coloration des cils était celle de Loeffler (1899). Cet auteur employait d'abord comme mordant un mélange de tannate de fer et d'une décoction de bois de campêche. Nous ne mentionnons ce fait que pour montrer que le point de départ des recherches de Loeffler était, en effet, le procédé de R. Koch. En poursuivant ces recherches, Loeffler est arrivé à son mordant classique, universellement connu sous le nom de « mordant de Loeffler »

(Loefflerbeize) ou « encre de Loeffler » ou encore « encre de fuchsine » et dont on trouve la formule dans tout manuel de technique bactériologique. Nous nous contentons de dire que ce mordant contient du tannin, du sulfate ferreux en solution aqueuse saturée à froid ainsi que de la fuchsine. Le mordantage était suivi de la coloration proprement dite au moyen d'une solution de violet de gentiane en eau d'aniline.

Loeffler s'était d'ailleurs aperçu lui-même que ce procédé était loin d'être universel. Ainsi, cet auteur n'a pas réussi à colorer, par son premier procédé, les cils du bacille typhique. Aussi, en 1900 a-t-il préconisé une modification consistant dans l'addition au mordant d'une certaine quantité de gouttes de NaOH ou de H^2SO^4 , suivant l'espèce microbienne. Il est évident que ce n'est pas un procédé pratique, car, suivant le microbe, il faut établir chaque fois empiriquement s'il faut ajouter de l'alcali ou de l'acide et combien de gouttes.

Ce fut donc incontestablement un grand progrès lorsque Nicolle et Morax (1893) modifièrent le procédé de Loeffler. Si les procédés originaux de Loeffler n'ont actuellement qu'un intérêt historique, la modification de Nicolle et Morax est encore beaucoup employée, le plus souvent sous le nom de « méthode de Loeffler ». Dans les pages qui suivent, il s'agira toujours de la méthode de Loeffler-Nicolle-Morax, lorsque nous parlerons de la méthode de Loeffler. Ce procédé consiste comme on le sait, dans des mordantages répétés à chaud (jusqu'à l'apparition de vapeur), suivis chaque fois de lavage. La coloration se fait au moyen de la fuchsine de Ziehl, également à chaud.

Depuis l'introduction du mordantage dans la technique de la coloration des cils, la quantité des procédés préconisés est devenue presque innombrable. Il n'est pas dans notre intention de décrire ici tous ces procédés ni même de les énumérer. On les trouvera chez Ficker (1929) dans le grand « Traité de microbes pathogènes » (*Handbuch der pathogenen Mikroorganismen*) de Kolle-Kraus-Uhlenhuth, dans la thèse de E. Frache (1926), dans des divers manuels de technique microbiologique ainsi que dans les travaux originaux. Signalons toutefois, comme méthodes les plus classiques, celles de van Ermengen (1893) et de Zettnow (1899).

Il ne manque donc certes pas de choix quant aux procédés de coloration des cils. Et cependant, on rencontre très souvent un grand nombre de bactériologistes, et même de bactériologistes de grande valeur, qui ne savent pas colorer les cils et qui, par conséquent, renoncent à cette coloration si importante pour l'étude d'une espèce microbienne. La coloration des cils bactériens reste toujours la plus difficile parmi toutes les colorations employées en bactériologie. Ceci s'explique en partie par la grande délicatesse et la fragilité des cils. D'autre part, bien des méthodes préconisées pour la coloration des cils sont ou bien très compliquées, ou bien peu sûres.

Qu'il nous soit permis d'invoquer ici, à titre d'exemple, un souvenir personnel. Lorsque, après avoir terminé nos études à l'Université de Lausanne, nous avons participé à un cours de microbiologie à l'Institut Robert Koch, à Berlin, c'était le Professeur Zettnow lui-même qui faisait la démonstration de la coloration des cils par son procédé. Les cultures et les réactifs étaient ensuite distribués aux élèves qui procédaient à la coloration sous la direction personnelle de Zettnow. Le résultat était fort peu encourageant : aucun de nous n'avait réussi à colorer même un seul cil. Et pourtant, on sait que ceux qui ont une grande expérience arrivent, avec le procédé de Zettnow, à faire des préparations de toute beauté.

Depuis longtemps, on s'efforce de trouver un procédé à la fois sûr et simple de coloration des cils. C'est ainsi que, par exemple, A. Simonin (1907) dans sa thèse effectuée sous la direction de notre maître, M. le professeur Dr Bruno Galli-Valerio (Lausanne), a étudié comparativement quinze méthodes de coloration des cils, en tenant compte surtout de leur valeur pratique. Il donne la préférence à la méthode de Valenti. Plus tard, Casares-Gil (1913) a élaboré et publié une méthode simple et donnant de bons résultats. Cette publication est restée d'abord complètement inaperçue. Deux ans plus tard (1915), Galli-Valerio a vivement recommandé cette méthode qu'il considère comme un procédé très simple, très pratique et donnant d'excellents résultats. Cependant, cette méthode reste toujours peu connue.

Ayant été conduit, d'abord par un besoin purement prati-

que, à la recherche d'un procédé de coloration des cils qui, tout en étant simple et n'exigeant pas un long entraînement, serait sûr même dans les cas très délicats, nous avons, après des échecs complets ou des résultats peu satisfaisants avec quelques autres méthodes, eu recours à la méthode de Casares-Gil que nous avons ensuite modifiée (1936). Aussi, allons-nous commencer ici par exposer ce procédé.

Méthode de Casares-Gil.

On prépare le réactif suivant (solution mère) :

a) On dissout dans un mortier, dans 30 cent. cube d'alcool à 70°, 10 grammes de tannin et 18 grammes de chlorure d'aluminium hydraté ;

b) On dissout dans 10 cent. cubes d'eau distillée, en triturant très soigneusement dans un mortier, 10 grammes de chlorure de zinc et 1 gr. 5 de chrohydrate de rasaniline (fuchsine). On verse ensuite, en remuant, goutte à goutte, la solution b dans la solution a.

La solution mère du mordant ainsi obtenue et non filtrée est gardée à l'abri de la lumière. Elle se conserve très longtemps. On peut d'ailleurs s'en servir immédiatement dès qu'elle est préparée (Voir Galli-Valerio, 1915 et 1918 ainsi que H. Rodorf 1921 qui a réussi les colorations en se servant d'une solution mère du mordant âgée de 6 ans 1/2 ; dans ce cas, le mordantage doit être prolongé de 2 à 3 minutes). Avant l'emploi on mélange rapidement dans un tube à essai 1 partie de la solution mère avec 4 parties d'eau distillée, on agite, on laisse reposer une minute environ.

La coloration des cils se fait de la façon suivante :

1° On verse, à travers le filtre, quelques gouttes de ce mordant dilué sur des préparations non fixées. On laisse agir jusqu'à la formation d'une mince couche à reflet métallique, d'après Galli-Valerio, une minute environ (nous laissons le mordant agir pendant deux minutes environ) ; 2° On lave rapidement à grande eau (sous le robinet) ; 3° On colore à la fuchsine phéniquée non diluée ou au bleu de méthylène, une à deux minutes ; 4° On lave à l'eau ; 5° On sèche à l'air.

Pour obtenir de bons résultats, il est évidemment indispensable de se servir des substances indiquées et de se conformer aux indications concernant la durée de coloration etc.

Hélène Rordorf mentionne dans sa thèse qu'on lui avait d'abord livré du chlorure d'aluminium déshydraté, au lieu du chlorure d'aluminium hydraté. Le mordant ainsi préparé était inutilisable. Chez E. Frache (1926), nous trouvons comme indication pour la durée de la coloration à la fuchsine phéniquée ou au bleu de méthylène (après le mordantage) « une ou deux secondes » au lieu de « une ou deux minutes ». Il est évident que cette faute d'impression ne peut que compromettre le procédé, étant donné que même en colorant pendant 1-2 minutes on obtient parfois une coloration peu intense des cils.

Pour la préparation du mordant (solution mère), nous nous servons des produits suivants :

tannin à l'éther	}	Rhône-Poulenc.
chlorure d'aluminium hydraté		
chlorure de zinc		
chlorhydrate de rosaniline (fuchsine base), marque R.A.L.		

La coloration au bleu de méthylène ne nous a pas satisfait; aussi n'employons-nous, pour ce procédé, que la fuchsine phéniquée.

Recherches personnelles.

Au cours de nos recherches, nous avons pu constater les grands avantages de cette méthode et aussi quelques-uns de ses défauts.

Les avantages de la méthode de Casares-Gil consistent dans sa grande simplicité, dans la facilité des manipulations n'exigeant la connaissance d'aucun tour de main spécial, dans l'emploi de réactifs qui se conservent bien, et, enfin, dans le fait que toutes les manipulations se font à froid. Dans bien des cas, nous avons obtenu de très belles préparations. Les résultats étaient sensiblement les mêmes que ceux obtenus par la méthode de Loeffler qui est, à notre avis, moins simple, parce que, dans cette méthode, le mordantage et la coloration se font à chaud.

Cependant, la coloration est, à notre avis, assez faible. Lorsqu'il s'agit de microbes à cils très fins, on a quelquefois de la peine à les voir. Enfin, dans quelques cas, nous avons eu des échecs complets (comme d'ailleurs, avec la méthode de Loeffler aussi). C'est pourquoi nous avons essayé de modifier la méthode de Casares-Gil, afin d'obtenir une coloration plus

intense des cils.

Nous nous sommes efforcé d'améliorer ce procédé et nous avons établi la technique permettant d'obtenir d'une façon simple et sûre des préparations de cils. Nous avons toujours pratiqué également des colorations par la méthode de Loeffler-Nicolle-Morax, afin de pouvoir comparer les résultats obtenus. Chaque souche étudiée a toujours été examinée (en tubes capillaires scellés, tant qu'il s'agissait des anaérobies), à l'état frais, du point de vue de sa mobilité.

Nous avons tout d'abord essayé de renforcer la coloration des cils en introduisant dans les manipulations un temps supplémentaire : la fixation. Nous avons commencé par l'acide osmique à 2 p. 100. Dans une série d'expériences, nous avons fixé nos préparations encore humides avec des vapeurs d'acide osmique ; dans une autre série d'expériences, nous avons immergé dans l'acide osmique, pour quelques instants, les préparations déjà dessechées. Nous n'avons jamais pu constater une amélioration des résultats.

De même, l'emploi des cultures formolées n'a donné aucun résultat.

Nous avons également essayé de modifier le mordant de Casares-Gil afin d'éviter toute coloration du fond de la préparation et toute formation de précipités. A cette effet, nous avons préparé la solution mère d'après Casares-Gil, à la seule différence que nous y avons supprimé la fuchsine. La solution obtenue de cette façon était absolument transparente, nous avons pu nous en servir sans filtration et le fond de la préparation restait clair. Malheureusement, nous avons dû constater que la coloration des cils est, lorsqu'on emploie cette solution, non seulement très faible (avec ou sans fixation à l'acide osmique), mais que c'est un procédé très peu sûr et très inconstant. Les résultats positifs étaient plutôt exceptionnels. Aussi, l'avons-nous abandonné.

Nous avons aussi essayé de renforcer la coloration en pratiquant le morçandage à chaud. La coloration était, en effet, plus intense, mais les corps bactériens étaient alors, le plus souvent, fortement déformés. Aussi avons-nous abandonné le morçandage à chaud. Notons ici en passant que W. Salomon (1937) a fait la même constatation en travaillant avec le mordant de David (1934) à chaud.

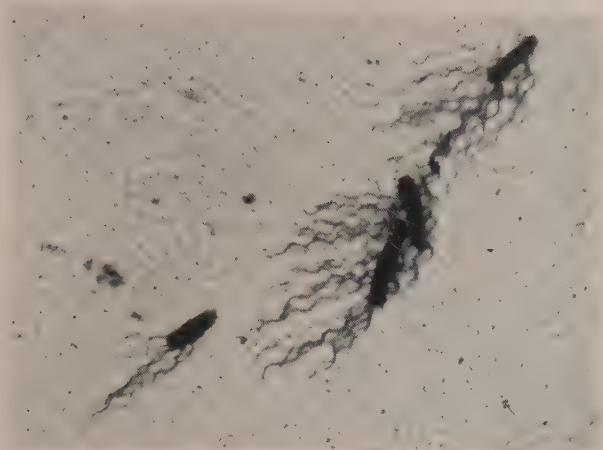


FIG. 3. — *B. cochlearius*. Culture de 15 heures à 30°. Coloration des cils par le procédé de Casares-Gil, modifié par S. Levenson. Grossissement : 1800. Photo Jeantet, Institut Pasteur.

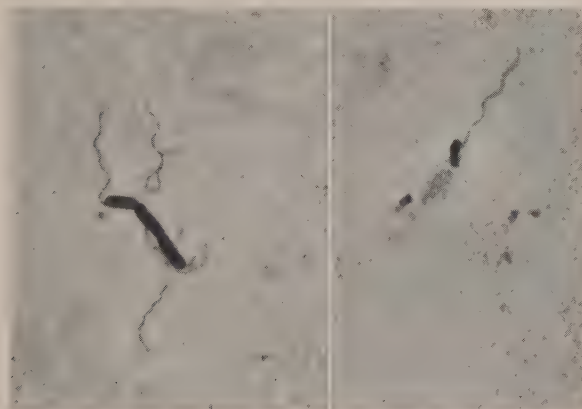


FIG. 4. — *B. lentoputrescens*. (Hartsell et Rettger). Culture de 24 heures. Coloration des cils par le procédé de Casares-Gil, modifié par S. Levenson. Grossissement : 1800. Photo Jeantet, Institut Pasteur.

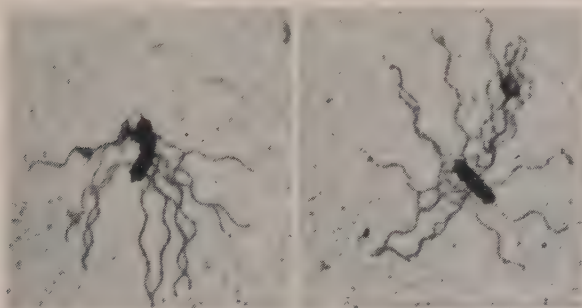


FIG. 5. — *B. sordellii*. Culture de 18 heures. Coloration des cils par le procédé de Casares-Gil, modifié par S. Levenson. Grossissement : 1800. Photo Jeantet, Institut Pasteur.

Par contre, nous avons modifié le deuxième temps de la méthode originale de Casares-Gil, en remplaçant la coloration avec des colorants basiques par l'imprégnation à l'argent. Après quelques tâtonnements, nous avons trouvé le procédé cherché. Ici aussi, nous avons fait des expériences avec la fixation préalable par l'acide osmique. Ayant constaté que dans aucun cas les préparations fixées n'étaient meilleures que les préparations non fixées, nous avons définitivement renoncé à l'emploi de l'acide osmique.

Nous allons exposer maintenant, avec tous les détails nécessaires, la technique adoptée par nous et la modification de la méthode de Casares-Gil dont nous nous sommes servi pour toutes nos recherches.

Détails de Technique

Lames. — Pour nos préparations, nous nous servons toujours de lames et non pas de lamelles comme le font beaucoup d'auteurs. Les lames sont beaucoup plus faciles à manier et on peut les marquer à l'aide d'un diamant afin d'éviter toute possibilité de confusion. Les lames doivent être très propres et bien dégraissées. Nous employons le procédé suivant : les lames sont lavées pendant plusieurs heures à froid (ou une demi-heure à chaud) dans un mélange de bichromate de potassium et d'acide sulfurique (c'est le mélange classique dont on trouvera les proportions dans le manuel de Calmette, Boquet et Nègre), puis à l'eau courante. Elles sont ensuite séchées et gardées dans un mélange d'alcool-éther (ââ). Pour obtenir un bon étalement de l'émulsion bactérienne, il est d'ailleurs absolument indispensable de flamber les lames avant l'emploi en les passant deux ou trois fois dans la flamme du bec Bunsen. Nous flambons le côté de la lame sur lequel sera fait l'étalement de l'émulsion bactérienne.

Age des cultures. — Nous avons déjà eu l'occasion de parler plus haut de l'âge des cultures à employer. Nous rappelons ici ce que nous avons dit sur les relations entre l'âge d'une culture et la température de l'incubation (la température optima pour le développement d'un microbe ne coïncide d'ailleurs pas toujours avec la température optima pour la mobilité), le milieu de culture, etc. Nous rappelons également

les exemples du *B. bifermentans*, du *B. pseudotuberculosis rodentium*, etc. que l'on trouvera traités plus haut.

Lorsqu'il s'agit de microbes anaérobies que nous colorons en nous servant de cultures en milieux liquides, on peut toutefois indiquer une règle plus ou moins générale. En effet, nous conseillons de procéder, dans ces conditions, à la coloration des cils dès que le milieu devient suffisamment trouble. En effet, la culture doit être à la fois jeune et abondante : jeune, pour renfermer les éléments les plus mobiles ; abondante, afin qu'on puisse la diluer le plus fortement possible pour éviter une trop grande quantité de particules du milieu qui fixent la matière colorante et rendent la préparation moins propre.

Par contre, lorsqu'on se sert de milieux solides (ce que nous faisons toujours pour les aérobies et ce que l'on peut faire également pour les anaérobies), il est toujours préférable d'examiner d'abord la culture à l'état frais.

Nous insistons d'ailleurs sur l'importance, pour les aérobies aussi bien que pour les anaérobies, du contrôle préalable de la mobilité des microbes par l'examen à l'état frais (pour les anaérobies, en tubes capillaires scellés). On arrive ainsi facilement à établir, pour chaque espèce microbienne, le moment précis où l'on peut procéder utilement à la coloration des cils.

Emulsions bactériennes. — Pour les émulsions bactériennes, nous employons le plus souvent l'eau physiologique, mais on peut aussi employer l'eau distillée et l'eau de robinet stérilisée soit par ébullition, soit par filtration sur bougie.

A ce sujet, on trouve, suivant l'auteur, des indications différentes. Les uns préconisent l'emploi de l'eau distillée, les autres se servent de l'eau de robinet (Ficker, 1929). L'eau physiologique, dont nous nous servons, est généralement peu recommandée. Toutes ces indications sont basées sur des considérations dont le point de départ est le changement brusque de concentration.

L'eau physiologique ayant une teneur en NaCl relativement élevée, on suppose que, lorsque la dessiccation en couche mince se produit rapidement, l'abondance de sels dans cette solution, devenant dans ces conditions très brusquement et très fortement hypertonique, doit faire éclater les corps bac-

tériens et provoquer l'arrachement des cils. On pourrait d'ailleurs faire des objections, se basant sur le même ordre d'idées, contre l'emploi de l'eau distillée, car là les microbes se trouvent brusquement transportés dans une solution hypotonique.

Nous avons fait un grand nombre d'expériences comparatives, en nous servant de l'eau distillée, de l'eau de robinet et de l'eau physiologique. Nous n'avons jamais pu constater des différences appréciables quant à la qualité des préparations. Une de nos meilleures préparations, celle du *B. botulinus* type B (fig. 2) nous montre ce microbe entouré d'une couronne de cils péritriches ondulés très nombreux. Et pourtant, cette préparation a été faite à partir d'une émulsion en eau physiologique.

Nous ne croyons cependant pas que cette insensibilité, toutefois relative, des cils vis-à-vis du changement de la concentration soit due à une particularité du procédé de Casares-Gil, comme paraît l'admettre H. Rordorf (cet auteur a travaillé avec la méthode originale de Casares-Gil en se servant des émulsions en eau de robinet), car, avec la méthode de Loeffler, qui est, à notre avis, bien inférieure à celle de Casares-Gil et surtout à notre modification, nous avons obtenu, à ce point de vue, les mêmes résultats.

Lorsqu'il s'agit des aérobies, nous nous servons, pour la préparation des émulsions bactériennes, de cultures d'âge approprié sur gélose inclinée fraîche et riche en eau de condensation. Nous prélevons le matériel soit en touchant légèrement avec l'anse de platine une colonie superficielle, soit en immergeant l'anse dans l'eau de condensation. L'anse de platine chargée d'un peu de culture, est introduite ensuite dans un tube à hémolyse ou dans un verre de montre contenant environ 5 à 6 gouttes d'eau. La culture doit se dégager de l'anse sans qu'on ait frotté celle-ci contre les parois du tube. Si la culture est visqueuse, on agite légèrement l'anse sans toucher au verre.

Pour les anaérobies, on peut procéder de la même façon lorsqu'on se sert de culture en surface sur milieux solides. Cependant, la culture des anaérobies en milieux liquides est beaucoup plus simple et beaucoup plus rapide à obtenir que sur milieux solides. Aussi préférons-nous nous servir, pour la coloration des cils de ces microbes, de milieux liquides (le plus

souvent en bouillon Vf glucosé à 2 p. 1.000, en tubes de Hall ; quelques cas spéciaux, dans lesquels nous nous sommes servi d'autres milieux liquides, seront indiqués plus loin).

Nous procédons, pour les anaérobies, de la façon suivante. Dans des tubes à hémolyse (ou dans des verres de montre, ce qui est moins commode) nous mettons VIII à X gouttes d'eau physiologique. Lorsqu'on se sert de cultures qui viennent de sortir de l'étuve, il est à recommander, afin d'éviter un changement brusque de température, de garder les tubes avec la quantité d'eau indiquée quinze à vingt minutes à l'étuve. Au moyen d'une pipette Pasteur, on introduit dans chaque tube I goutte de culture. Si les cultures sont peu abondantes, nous nous servons des émulsions ainsi obtenues pour faire les étalements. Par contre, si les cultures sont abondantes (ce qui est toujours plus avantageux) nous mettons une grosse goutte d'eau physiologique sur une lame propre, mais non flambée. Nous introduisons dans cette goutte 1, 2, 3 anses de notre première émulsion (suivant l'abondance de la culture).

Quelques auteurs préconisent la centrifugation des cultures en milieux liquides afin d'obtenir le moins de précipités possible. Ainsi, Turner (1927) centrifuge pendant 20 minutes à 4.000 tours par minute, il décante le liquide surnageant et il émulsionne le culot dans un peu d'eau physiologique.

Nous déconseillons très vivement l'emploi de la centrifugation, vu que les cils sont très souvent arrachés par la centrifugation même très courte. Nous en donnerons plus loin quelques exemples. D'autre part, le procédé de sédimentation, après addition de formol, exige beaucoup de temps (une semaine environ), et les résultats que nous avons obtenus par ce procédé n'étaient pas très bons. Nous préférons donc le procédé des fortes dilutions que nous venons de décrire.

Après avoir obtenu la dilution voulue, nous faisons les étalements sur des lames au moyen d'une petite anse de platine, en prenant soin de frotter le moins possible. Les frottis sont ensuite séchés à l'air (autant que possible, à l'étuve).

Au lieu de faire les étalements avec l'anse de platine, on peut évidemment se servir du procédé des petites gouttelettes déposés sur la lame au moyen d'une pipette dont l'extrémité est très finement effilée. Ce procédé est préconisé, entre autres, par Lasseur, Frache (1926), Turner et Davesne (1927)

etc. Cependant, l'emploi de l'anse de platine est beaucoup plus simple et nous donne pleine satisfaction.

Coloration des cils bactériens (modification personnelle)

Réactifs. — a) Le mordant de Casares-Gil, tel que nous l'avons déjà décrit ; b) Solution aqueuse de nitrate d'argent additionnée d'ammoniaque jusqu'à ce que le précipité se redissolve en faisant place à une opalescence légère, mais nette (solution de Fontana). Nous employons une solution de nitrate d'argent à 2 p. 100. On arrive plus facilement à préparer la solution de Fontana en employant de l'ammoniaque diluée au tiers (Jordan, Caldwell et Reiter, 1934). Si toutefois on dépasse la limite et que le liquide devienne limpide, on ajoute de la solution de nitrate d'argent jusqu'à l'apparition d'une opalescence nette. La solution de Fontana doit être chaque fois fraîchement préparée.

Coloration. — 1° Mordancer (à froid) les préparations non fixées avec le réactif de Casares-Gil dilué à 1/5 pendant deux minutes environ ; 2° Laver à grande eau ; 3° Rincer à l'eau distillée ; 4° Verser sur les préparations quelques gouttes de la solution de Fontana, faire agir pendant quelques secondes en chauffant doucement sur la veilleuse du bec Bunsen jusqu'à émission de vapeurs ; la flamme de la veilleuse doit être très petite et il faut faire bien attention que toute la préparation reste couverte de réactif ; pendant le chauffage remuer très légèrement la préparation pour ne pas chauffer une seule partie de la préparation ; 5° Laver rapidement à l'eau distillée ; 6° Sécher à l'air, autant que possible à l'étuve, en inclinant les lames ; ne jamais sécher entre des feuilles de papier-filtre ; 7° Monter au baume de Canada. Si l'on est pressé, on peut examiner les préparations rapidement avant de les avoir montées au baume. Dans ce cas, il faut ensuite les laver immédiatement très soigneusement au xylol, afin de les débarrasser complètement de l'huile de cèdre, et, après dessiccation, les monter au baume. Les préparations montées au baume sont séchées à l'étuve pendant deux à quatre jours. On ne les examine à l'immersion que lorsque le baume est desséché. On les garde à l'abri de la lumière.

Nous ne faisons pas de décoloration du fond, cette mani-

pulation rendant la coloration des cils très difficile et peu sûre. Mais, malgré la coloration du fond, on trouve dans chaque préparation des parties propres et nettes, très souvent photographiables.

Matériel examiné. — Nous avons examiné, comparative-ment par les trois méthodes (méthode originale de Casares-Gil, notre modification et méthode de Loeffler) les microbes suivants: *Aérobies* : *B. proteus*, *B. subtilis*, *B. pyocyaneus*, *B. coli*, *B. typhi*, etc. *Anaérobies* : Vibrion septique, *B. sporonenes* et son groupe (*B. parasporogenes*, *B. de Reading*, *Cl. flabelliferum*), *B. oedematiens* (8 souches), *B. chauvoei* (3 souches), *B. botulinus* (types A, B, C et D) (fig. 1 et 2), *B. tetani* (6 souches), *B. tertius*, *B. sphenoides*, *B. cochlearius* (fig. 3), *B. difficilis* (2 souches), *B. aerofoetidus* (2 souches), *B. lentoputrescens* (2 souches) (fig. 4), *B. bifermentans* (10 souches de la collection de M. Weinberg ainsi qu'une souche de Hall, désignée comme « *B. centrosporogenes* »), *B. histolyticus* (4 souches), *B. sordellii* (fig. 5), *B. haemolytique bovis*, bacille de l'« *osteomyelitis bacillosa bubalorum* » (Kraneveid 1930).

Quelques observations. — Au cours de nos recherches nous avons fait les constatations suivantes:

La fragilité des cils varie d'une façon frappante non seulement d'une espèce bactérienne à l'autre, mais aussi suivant la souche de la même espèce. Ainsi, le V. septique et le *B. sporogenes* ont gardé leurs cils après la centrifugation (huit à dix minutes). Par contre, la coloration des cils de toutes les souches examinées du *B. tetani* et du *B. botulinus* était impossible, aucune de ces souches ne supportant la centrifugation. Dès que nous avons supprimé la centrifugation, en procédant comme il est indiqué plus haut, nous avons obtenu d'emblée des préparations de bâtonnets munis de cils nombreux, tant qu'il s'agissait de souches ayant gardé la mobilité. D'autre part, nous avons pu facilement colorer les cils des 8 souches de *B. oedematiens*, en employant le procédé de fortes dilutions. Par contre, ces souches de *B. eodematiens* se comportaient d'une façon très différente vis-à-vis de la centrifugation : les souches « 128 » et « Debonera » supportaient très bien la centrifugation, les souches « Kreguer » et « Lard » la supportaient moins bien, tandis que les autres souches la

supportaient mal ou ne la supportaient pas du tout.

Discussion des résultats. — Dans bien des cas, nous avons obtenu une coloration nette des cils par les trois procédés, quoique la coloration obtenue par le procédé que nous préconisons fût toujours la plus intense et la plus nette. Cependant, dans quelques cas la différence entre les résultats obtenus suivant la méthode était encore plus grande. Ainsi, nous n'avons pu obtenir par la méthode originale de Casares-Gil et par la méthode de Loeffler qu'une coloration très faible, parfois à peine visible, des cils de quelques microbes (par exemple *B. sordellii*). Les 2 souches examinées du *B. difficilis* ont présenté des cils nettement imprégnés par la méthode que nous préconisons. La coloration par la méthode originale de Casares-Gil était tellement faible qu'on n'était pas sûr que ce fussent vraiment des cils, et, enfin, par la méthode de Loeffler nous n'avons pas réussi à colorer les cils de ce microbe. Pour le *B. aerofoetidus* souche « Kr » (culture de quinze heures environ à 30°), nous avons obtenu une coloration très nette par notre procédé, une coloration nette mais pâle par la méthode originale de Casares-Gil ; par la méthode de Loeffler, nous n'avons pas obtenu de coloration. Comme nous l'avons déjà dit ailleurs (Levenson 1936) nous avons pu facilement colorer les cils des souches fraîchement isolées du *B. bifermentans* (souches « Nigoul » et « Ovari »). Par contre, pour les vieilles souches de collection, nous ne sommes arrivé au but qu'avec notre procédé. Le même cas se produisit avec le *B. lentoputrescens* et avec une souche du *B. coli*.

La coloration des cils réussit souvent d'emblée. Mais, dans certains cas, elle est assez difficile, soit à cause de la finesse et de la fragilité très grandes des cils (par exemple: *B. sphneoides*), soit parce que le microbe en question pousse très lentement (par exemple: *B. lentoputrescens*). Pour le *B. sphneoides*, nous avons obtenu de meilleurs résultats en utilisant des cultures en bouillon non sucré. Quant au *B. lentoputrescens* (fig. 4), nous sommes parvenu à obtenir une culture suffisamment abondante, en nous servant de tubes de bouillon non sucré, contenant un morceau de craie (c'est à notre collègue, Mlle A. Kreguer, que nous devons le conseil d'employer ce procédé).

En résumé, nous avons pu obtenir, par le procédé que

nous préconisons, des préparations de cils de tous les microbes examinés, tant qu'ils étaient mobiles.

Nous pouvons donc conclure que:

1° Le mordant de Casares-Gil est un réactif très précieux pour la mise en évidence des cils bactériens ;

2° La méthode originale de Casares-Gil est un bon et très simple procédé, donnant dans bien des cas de bons résultats;

3° En remplaçant les colorants basiques par l'imprégnation à l'argent, on obtient un procédé plus sûr et donnant des préparations beaucoup plus nettes.



Après avoir mis au point cette technique de coloration des cils, nous avons eu, à maintes reprises, l'occasion d'en faire la démonstration, soit devant nos collègues de l'Institut Pasteur, soit devant des bactériologistes venant de l'Etranger. Ceci nous a permis de nous convaincre que ce procédé est vraiment sûr et simple et que, par le fait qu'il n'exige aucun entraînement spécial, il répond à un besoin réel.

Arena et Schwartz (1936) se sont servis du procédé préconisé par nous pour la différenciation morphologique des variantes R et S du bacille typhique. Ces auteurs confirment que ce procédé est facile à pratiquer et donne de bons résultats. Toutefois, ils auraient obtenus des résultats encore supérieurs en le modifiant de la façon suivante: 1) les préparations sont fixées à l'acide osmique à 2 p. 100; 2) toutes les manipulations, y compris l'imprégnation à l'argent, sont faites à 37°, l'imprégnation étant prolongée jusqu'à 5 minutes. La coloration serait alors plus uniforme. Nous avons déjà parlé plus haut de nos expériences avec la fixation à l'acide osmique et des raisons pour lesquelles nous avons abandonné l'emploi de cette substance coûteuse, très désagréable à manier et ne donnant pas de meilleurs résultats. D'ailleurs, un procédé basé sur l'emploi de l'acide osmique n'est jamais un procédé simple. Quant aux manipulations à 37°, disons tout d'abord que, par exemple, Lasseur (cité d'après Frache, 1926) préconise depuis longtemps l'imprégnation lente à 37°. Disons encore que, dans certains cas faciles, nous avons obtenu la coloration des cils même à la température du laboratoire.

Nous pratiquons l'imprégnation en chauffant, car c'est un procédé rapide et, d'après notre expérience, un procédé universel, donnant de bons résultats même dans les cas les plus difficiles. Ajoutons enfin qu'Arena et Schwartz, pour pouvoir pratiquer toutes les manipulations à 37°, s'installent pour la coloration des cils dans une chambre étuve (communication verbale du Dr Schwartz). Nous ne pouvons pas considérer ceci comme un procédé simple et pratique. En plus, on se prive de cette façon d'un avantage très grand du travail dans le laboratoire. En effet, on aperçoit la formation de la couche mince à aspect métallique lors du mordantage beaucoup plus facilement à la lumière du jour qu'à la lumière artificielle, comme l'a fait remarquer déjà H. Rordorf. En outre, nous considérons cette complication (aussi bien que l'emploi de l'acide osmique) comme étant absolument inutile. En prenant bien soin de se servir d'une flamme très petite et de remuer légèrement la préparation, on obtient le même résultat. Et il s'agissait pour nous justement de trouver un procédé sûr, simple et pratique. Or, la modification qu'Arena et Schwartz font subir à la technique préconisée par nous, n'est sûrement ni simple ni pratique.

M. Bornand, privat-docent à la Faculté de Médecine de l'Université de Lausanne, s'est également servi du procédé préconisé par nous. Voici ce que cet auteur écrit sur cette technique (1937) : « Nous avons expérimenté la modification proposée par Levenson sur un certain nombre de bactéries ciliées (*B. typhi*, *B. coli*, *B. proteus*, *B. pyocyaneum*) et également sur une émulsion de matières fécales de chamois renfermant un grand nombre de bactéries mobiles. Les résultats obtenus ont été excellents ». L'auteur arrive à la conclusion suivante : « Le procédé de coloration des cils de Casares-Gil avec la modification proposée par Levenson est le plus sûr, le plus rapide ; il remplace tous ceux préconisés jusqu'à maintenant ; il peut également servir pour la différenciation des bactéries, d'après le nombre et la disposition des cils ». (Bornand ajoute encore que « la coloration de *Treponema pallidum* dans les lésions syphilitiques et des spirochètes en général se fait de même avec une grande facilité avec cette méthode ». Ceci se trouvant en dehors de notre sujet, nous ne le mentionnons qu'en passant).

AUTRES PROCÉDÉS

Colorations vitales. — Il va de soi que la coloration vitale des cils serait un procédé idéal si elle était réalisable. Malheureusement, il n'en est rien. Pratiquement, les procédés de coloration des cils *in vivo* ne donnent pas de résultats.

Signalons toutefois que *Straus* (1892) aurait réussi la coloration vitale des cils des microbes suivants: *V. cholerae asiatica*, *V. avicida* de Gamaleia (*V. Metchnikovi*), bacille de Finkler-Prior.

La technique dont *Straus* s'est servi était la suivante. Une anse de culture en bouillon est mélangée avec une goutte de fuchsine de Ziehl diluée de 1 : 4 à 1 : 5. On couvre la goutte ainsi obtenue avec une lamelle et on examine le plus rapidement possible au moyen d'un fort objectif à immersion.

En se servant de la même technique, *Straus* n'a pas réussi la coloration des cils des autres bactéries (*B. typhi*, *B. coli*, *B. subtilis*).

Procédé à l'encre de Chine de Burri-Gins

Avant de traiter la question de l'interprétation des résultats obtenus soit par la coloration des cils, soit par l'examen sur fonds noir, nous allons mentionner encore brièvement un procédé qui, mis en pratique par *Burri* pour l'étude de la morphologie des bactéries, des spirochètes, etc..., a été employé par *Gins* (1911) pour l'étude des cils bactériens ou, plus précisément, des tresses de cils. Le procédé est très simple. On dépose sur une lame une goutte d'encre de chine (*Boecker* et *Kauffmann*, 1931, recommandent l'encre de Chine « *Pelikan* » n° 541 de *Gruebler* ou bien la « *Perlтусche* » de *Guenther* et *Wagner*), on y introduit une trace de la culture ou du produit à examiner, on mélange et on fait, au moyen d'une autre lame, un frottis, en procédant de la même façon que pour des frottis de sang. On laisse la préparation sécher à l'air et on l'examine à l'immersion. On voit alors les contours des microbes non colorés se détachant du fond coloré par l'encre de Chine. Notons en passant qu'au lieu de l'encre de Chine on peut employer, pour ces « colorations négatives », très avantageusement d'autres substances, telles que le collargol ou la cyanochine.

Le procédé de *Burri* donne de très bons résultats pour

l'examen rapide des bactéries, des spirochètes et d'autres microorganismes, mais son emploi pour la mise en évidence des cils, préconisé par Gins, ne peut pas être recommandé. Les résultats sont très inconstants, souvent nuls. Gins lui-même dit que ce ne sont que les tresses de cils que l'on arrive à voir de cette façon. En plus, si l'auteur a pu mettre en évidence, par ce procédé, les tresses de cils de certains microbes (*B. typhi*, *B. paratyphi* B, et d'autres représentants du groupe *Salmonella* sauf le B. de Aertrycke, ensuite le *B. proteus*, etc.), il n'a jamais eu de résultats positifs avec d'autres bactéries (*B. coli*, *B. paracoli*, *B. faecalis alcaligenes*, quelques vibrions).

Si donc ce procédé n'a pas, pour l'étude des cils, de valeur pratique, nous avons tenu néanmoins à l'indiquer ici, surtout à cause de quelques résultats obtenus par Gins qui nous semblent être intéressants du point de vue théorique et sur lesquels nous reviendrons tout à l'heure.

C. — *Interprétation des résultats obtenus par la coloration des cils et par l'observation sur fond noir*

Quels sont les rapports entre ce que l'on voit, d'une part, sur des préparations colorées et, d'autre part, à l'examen sur fond noir ? Il suffit de jeter un coup d'œil, par exemple, sur les photomicrographies de Neuman et de les comparer avec celles données par Pijper pour que cette question s'impose. Si nous rappelons encore que Wei (1936) a décrit le *B. proteus* et le *B. subtilis* comme ayant des cils péritriches et le *B. typhi* comme n'ayant que deux cils latéraux, alors que Pijper a nié dans ses publications de 1930 et 1931 l'existence de cils péritriches aussi bien chez le *B. proteus* que chez le *B. typhi*, on nous concédera que nous ne pouvons pas nous dispenser de discuter ce problème.

Nous avons envisagé brièvement les procédés d'examen sur fond noir de Reichert, Neumann, Neumüller, Wei. On sait que d'après les recherches de Reichert et de Neumann un seul cil n'est, dans la plupart des cas, pas visible à l'ultramicroscope (rappelons que, d'après Neumann, un seul cil n'est visible dans n'importe quel milieu que lorsqu'il atteint au moins l'épaisseur des cils du *V. cholerae*, c'est-à-dire $0\mu.05$ de diamètre). Pour qu'on puisse voir les cils, surtout des bactéries péritriches, il faut qu'il y ait formation de tresses, et celle-ci ne se

produirait que dans des conditions spéciales. Pour Reichert, ces conditions seraient réalisées par la présence, dans le milieu, des électrolytes et des substances colloïdales. Pour Neumann, le point le plus important serait la viscosité du milieu. On distingue des cils primaires, non visibles à l'ultramicroscope, des cils secondaires, mieux développés, commençant, par ci et par là, à s'enchevêtrer, et des cils tertiaires, formant des tresses et bien visibles à l'ultramicroscope. Gins, dont nous avons mentionné le procédé à l'encre de Chine, aurait pu observer, par cette méthode, les différents stades de formation des tresses. Ces notions paraissent, surtout d'après Neumann, être en accord parfait avec les préparations colorées, d'une part, et ce que l'on voit à l'ultramicroscope, d'autre part : beaucoup de cils fins (par exemple chez le *B. proteus*) dans des préparations colorées et peu de cils, mais cils (c'est-à-dire tresses) beaucoup plus volumineux vus sur fond noir.

Ces conceptions ont trouvé un adversaire très passionné en la personne de A. Pijper. Nous avons déjà mentionné très sommairement sa technique d'examen sur fond noir. Après avoir refait les expériences de Neumann et de Neumüller en se servant de cultures en bouillon additionné de gomme arabe il a fait des recherches sur des cultures en bouillon additionné de 2 p. 100 de mucine (1930) et, enfin, sur des cultures en bouillon ordinaire (1931) en utilisant la lumière solaire.

Nous allons résumer ici tout d'abord en quelques mots les résultats et les affirmations auxquels était arrivé au début de ses recherches Pijper en se basant sur l'observation des cils du *B. typhi* et du *B. proteus*. Pijper affirmait que le *B. typhi* et le *B. proteus* n'ont pas de cils péritriches, et qu'ils ne possèdent que deux cils latéraux. Il nie la formation de tresses dans les milieux visqueux. D'après lui, on verrait les deux cils le plus souvent sous forme d'un seul filament, mais en milieu visqueux ce filament en forme de longue queue se déploierait en deux cils latéraux. En d'autres termes, la viscosité du milieu provoquerait non pas l'enchevêtrement des cils et la formation des tresses, mais, bien au contraire, le déploiement d'une fine tresse formée par deux cils. Les photomicrographies de Neumann, sur lesquelles on voit plus de deux

cils représenteraient non pas un bâtonnet, mais un filament formé par plusieurs corps microbiens. Quant aux préparations colorées, représentant des cils péritriches, il s'agirait ou bien d'éléments n'ayant rien à faire avec les vrais cils, ou bien de cils empruntés (« geliehene Geisseln ») c'est-à-dire de cils détachés d'autres corps microbiens et s'étant fixés autour d'un bâtonnet. Bien que les recherches de Pijper ne soient effectuées que sur le *B. typhi* et le *B. protus*, les objections théoriques invoquées par lui sont d'un ordre général. En effet, d'après lui un nombre plus ou moins grand de cils générerait plutôt la mobilité. Les gros cils interprétés par Neumann comme des tresses résulteraient du fait que la gomme arabique formerait, par adsorption, une sorte de gaine autour des cils. En ce qui concerne les préparations colorées, on prendrait le plus souvent intentionnellement (« absichtlich ») des cultures sur gélose. Or, la gélose aussi bien que l'eau de condensation contiennent des substances collantes. Et c'est grâce à ces substances collantes que les cils, détachés des autres bâtonnets, se fixeraient sur un corps bactérien pour simuler la disposition péritriche des cils.

Comme on le voit, ces conceptions se trouvent en contradiction absolue avec les notions devenues classiques concernant les cils péritriches. De plus, il y a également contradiction entre les conceptions des autres chercheurs ayant travaillé sur fond noir (le travail le plus important sur ce sujet nous paraît être celui de Neumann, 1928) et celle de Pijper. Rappelons, toutefois, en passant que Wei (1936), a, lui aussi, observé tout au plus deux cils latéraux chez le *B. typhi*. Par contre, en examinant le *B. proteus* et le *B. subtilis* sur fond noir, il les a trouvés munis de cils péritriches.

D'autre part, il est évident que l'observation des cils, sur des microbes vivants, dans des milieux ne contenant aucune substance collante représente un grand avantage : les mouvements ne sont pas ralentis artificiellement, et on observe dans ces conditions, d'après Pijper, des cils « nus », c'est-à-dire des cils qui ne sont pas enveloppés dans une gaine formée par adsorption de gélatine ou de gomme.

Mais aucun microbiologiste ayant une certaine expérience de la coloration des cils n'accepterait jamais cette conception, d'après laquelle tous ses résultats ne reposeraient que

sur des artifices de préparation. C'est d'ailleurs, peut-être, une des raisons pour lesquelles les recherches de Pijper sont restées, semble-t-il, presque sans écho.

Cependant, Pijper a continué et continue toujours ses recherches. Il ne soutient plus tout ce qu'il avait affirmé en 1930 et 1931. Grâce à l'emploi d'une meilleure optique et peut-être aussi grâce à l'utilisation plus rationnelle de la lumière solaire, il est parvenu à faire de nouvelles observations qui présentent, à notre avis, un intérêt tout à fait exceptionnel. Nous sommes heureux de pouvoir résumer ici, grâce à la grande obligeance du Dr Pijper, les points essentiels de ses observations encore inédites.

Nous savons déjà que, d'après Pijper, le *B. typhi* et le *B. proteus* se déplacent au moyen d'un filament en forme d'une queue. Ce filament serait composé de deux cils latéraux (souvent il n'y a qu'un seul cil, parfois trois cils). Ce sont des *cils fonctionnels*. En perfectionnant son procédé d'examen sur fond noir à l'aide de la lumière solaire (toujours en bouillon ordinaire) Pijper est parvenu à constater qu'à un moment donné ces *cils fonctionnels* se déploient assez brusquement en un certain nombre de cils très fins (*cils primaires*). La disposition de ces cils est *péritriche*. Pijper ne nie donc plus l'existence de cils péritriches. Par contre, il insiste sur le fait que certaines formations représentées parfois comme des cils colorés, ne seraient que des artifices de préparation. La coloration des cils serait un procédé important pour la mise en évidence des cils, mais les préparations colorées doivent être interprétées en se basant sur les résultats obtenus par observation sur fond noir. (Communication personnelle du Dr Adrianus Pijper, Pretoria, Afrique du Sud).

Ces observations récentes dont nous n'avons donné ici qu'un résumé sommaire et que Pijper va publier prochainement avec tous les détails, nous montrent qu'il a, en effet, trouvé une des voies les plus heureuses pour ses recherches.

Nous sommes parfaitement d'accord avec Pijper et nous croyons que c'est l'opinion de tout biologiste, que l'interprétation de toute préparation doit être basée sur les données acquises par l'observation sur du matériel vivant. Et cette base nous est maintenant fournie par Pijper. Sur des préparations mordancées nous voyons, du moins dans la plupart

des cas, des cils « primaires » et non pas les cils *fonctionnels* (notons en passant que les cils fonctionnels de Pijper ne sont autre chose que des tresses de cils). Cependant, ceci ne diminue, à notre avis, aucunement la valeur de la coloration des cils. Nous sommes encore très loin de l'époque où tout bactériologiste sera à même d'effectuer des recherches par le procédé de Pijper. Ceci ne nous empêche pas de dire que nous considérons ce procédé comme étant celui qui promet de fournir les résultats les plus intéressants. Nous n'y voyons qu'un défaut : le fait qu'il est loin d'être à la portée de tous les microbiologistes travaillant sur les questions de la mobilité et des cils bactériens.

Avant de terminer ce chapitre, nous voudrions dire encore quelques mots au sujet des « cils empruntés ». Pijper invoque, à l'appui de cette conception, l'action collante de la gélose. Or, toutes nos préparations des cils des microbes anaérobies sont faites à partir de cultures en bouillon ne contenant aucune substance collante. Nous renvoyons par exemple à la photomicrographie de notre préparation du *B. botulinus* type B (fig. 2). Ces cils nombreux, ondulés, à disposition nettement pérित्रiche, ne sont sûrement pas des artifices de préparation. D'ailleurs, l'idée que les cils détachés pourraient venir s'accoler, d'une façon si régulière et si constante, à un corps bactérien dont ils ne font pas partie, nous paraît inconcevable aussi bien pour les milieux gélosés que pour les milieux non gélosés.

CHAPITRE IV.

Mobilité et cils chez les Coccaceae

Généralités. — Ellis, dans un mémoire paru en 1902, prétendait que, par des repiquages fréquents, on pouvait rendre mobiles et ciliées *toutes* les *Coccaceae*. D'après lui, ces repiquages répétés, auxquels il procédait dès l'apparition d'une colonie visible, débarrasseraient les cocci du mucus, et c'est alors qu'on pourrait constater la mobilité et la présence de cils chez ces microbes. Il a examiné, par ce procédé, 16 espèces de sarcines, 3 espèces de *Micrococcus* et 3 espèces de *Streptococcus* (*Str. tyrogenes* Henrici 1894, *Str. pallidus* Henrici 1894 et *Str. pyogenes* Rosenbach 1884).

Notons en passant qu'une année plus tard Ellis prétendait qu'il en était de même pour toutes les *Bacteriaceae*. Ajoutons encore qu'Arthur Meyer (1902), dans le laboratoire duquel ont été effectuées les recherches d'Ellis, partage pleinement ses idées et en tire les conséquences pour la classification: d'après lui, le genre *Bactérium* (non cilié) ne serait qu'un stade du développement du genre cilié *Bacillus*.

Parfois, on ne trouve qu'un certain scepticisme ou des doutes vis-à-vis des conceptions d'Ellis (par exemple, chez Benecke, 1912, Omeliansky, 1931, etc.). Mais, en réalité, personne n'a jamais pu confirmer ses observations. Bien des chercheurs ont tenté, sans succès, de reproduire les expériences d'Ellis (Fried, 1902, Lehmann et Fried, 1903, Burckhardt, 1914, etc.). Zettnov (1918) a soumis les recherches d'Ellis à une critique très sévère. La description des mouvements donnés par Ellis a conduit Zettnov à la conclusion

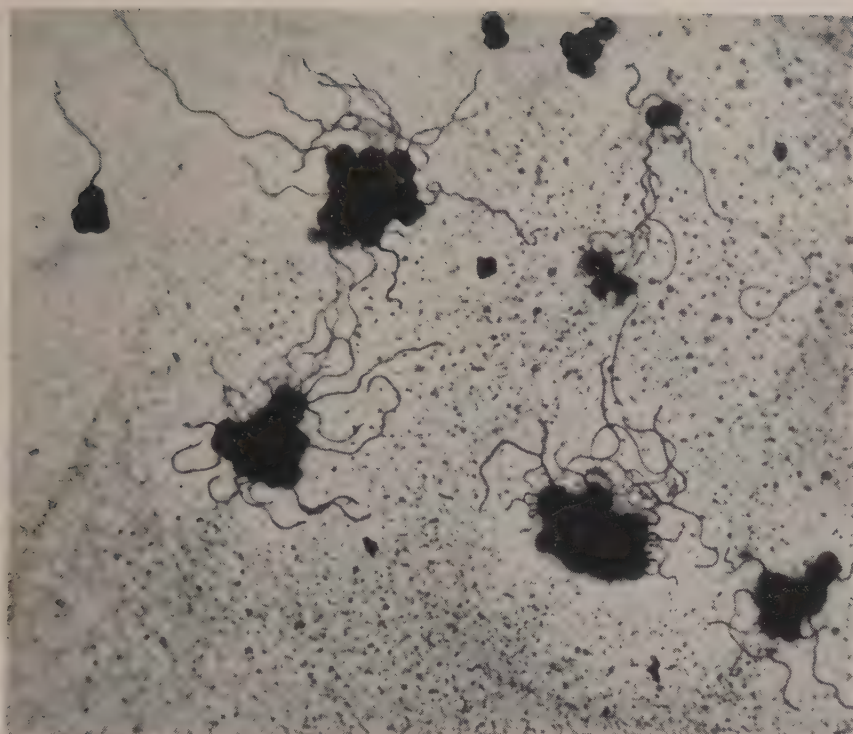


FIG. 6. — *Sarcina ureae*. Souche de la National Collection of Type Cultures, Londres. Coloration des cils par le procédé de Casares-Gil, modifié par S. Levenson. Grossissement : 1800. Photo Jeantet, Institut Pasteur.



FIG. 7. — *Entérocoques mobiles*. Coloration des cils par le procédé de Casares-Gil, modifié par S. Levenson. Grossissement : 1800. Photo Jeantet, Institut Pasteur.

qu'il ne s'agissait pas d'une vraie mobilité. D'autre part, d'après cet auteur, qui a pratiqué des mensurations sur les planches dessinées d'Ellis, les prétendus cils seraient souvent 2 fois plus longs que les cils observés jusqu'alors. Les filaments décrits par Ellis comme cils ne seraient, d'après Zettnow, que des filaments de mucus entourant les corps microbiens (« Schleimgeisseln »). Les contractions de ces filaments muqueux auraient induit Ellis en erreur.

Rappelons à ce propos que Galli-Valerio, en 1908, a isolé, d'un cas de pemphigus à répétition, une sarcine absolument immobile qu'il a identifiée comme *Sarcina loewenbergi* Macé et qui, colorée à la fuchsine phéniquée, présentait un réticulum de filaments de mucus que l'on pouvait très facilement confondre avec de vrais cils.

Notons encore une observation intéressante de Zettnow: une culture de *Micrococcus citreus agilis*, ensemencée sur gélose (« Spirillenagar »), bouchée au coton et complètement desséchée, s'est montrée, onze ans plus tard, encore très mobile dès le premier repiquage.

Non moins sévère que la critique de Zettnow est celle de Van Niel (1923). D'après lui, la soi-disant mobilité telle qu'elle a été décrite par Ellis serait plutôt un mouvement brownien très accentué. De plus, il attire l'attention sur le fait qu'Ellis a observé la prétendue mobilité dans des conditions qui peuvent très bien être interprétées comme des causes de l'augmentation du mouvement brownien, à savoir : 1° lorsqu'il y a une désagrégation des amas, 2° sur « Spirillenagar », milieu relativement pauvre sur lequel les corps bactériens pourraient bien diminuer de volume. D'accord avec Zettnow, l'auteur considère les filaments dessinés par Ellis comme étant beaucoup trop longs pour être de vrais cils. En outre, les vrais cils sont ondulés, alors que les filaments dessinés par Ellis ne le sont pas. Enfin, Van Niel constate qu'Ellis n'a examiné ses cultures qu'à l'état vivant. Or, le mouvement brownien n'étant pas un phénomène vital, cet auteur a eu l'idée très ingénieuse d'examiner parallèlement des cultures vivantes et des cultures tuées par l'acide osmique. Comme matériel, il s'est servi de cultures de *Sarcina rosea*, *Sarcina flava* et *Sarcina ureae*. Cette dernière est incontestablement mobile et ciliée, comme le montre d'ailleurs la photomicro-

graphie d'une de nos préparations (fig. 6). Elle a servi à l'auteur de témoin. En examinant, en goutte pendante, la *Sarcina rosea* et la *Sarcina flava*, l'auteur a constaté d'abord un ralentissement progressif puis, après 15 à 30 minutes, l'arrêt des mouvements. Ce phénomène se produisit aussi bien avec les cultures vivantes qu'avec les cultures tuées par l'acide osmique. Par contre, la *Sarcina ureae* traitée par l'acide osmique devenait presque instantanément immobile, tandis qu'à l'état vivant elle restait mobile pendant des heures. Ces expériences nous paraissent être vraiment très démonstratives. Van Niel a pratiqué également des colorations, en se servant des méthodes de Loeffler, de Zettnow et de Casares-Gil. Il a obtenu les mêmes images qu'Ellis, mais, d'après lui, ces filaments n'ont aucun rapport avec les cils. Tous les doutes disparaissent lorsqu'on compare les soi-disant « cils » de *Sarcina rosea* et de *Sarcina flava* avec les vrais cils de *Sarcina ureae*. En résumé, l'auteur nie d'une façon catégorique les conceptions d'Ellis.

Stölting (1935) fait également une observation intéressante : en étudiant 12 souches mobiles de *Str. bovis* (nous reviendrons plus loin sur les recherches de cet auteur), il constate qu'une « période de repos » paraît favoriser la manifestation de la mobilité. Par contre, la mobilité de ses souches diminuait lorsqu'il faisait des repiquages fréquents. C'est juste le contraire de ce qu'affirmait Ellis.

Nous-même, en étudiant 44 souches d'entérocoques, dont 41 immobiles et 3 mobiles, n'avons jamais observé les phénomènes signalés par Ellis : après des repiquages nombreux et fréquents les souches immobiles sont restées immobiles.

Les affirmations et les généralisations d'Ellis sont donc loin d'être confirmées. Cependant, il n'en est pas moins vrai qu'il existe des *Coccaceae* mobiles et ciliées et qu'on en connaît même depuis longtemps. Notons en passant que Zettnow lui-même, adversaire convaincu de la conception d'Ellis, a décrit un groupe de cocci mobiles sous le nom de *Micrococci flavorosei* (1918). Nous trouvons dans sa publication de belles photomicrographies des cils de ces microorganismes. Nous venons de voir d'ailleurs que Van Niel ne nie pas non plus l'existence des *Coccaceae* mobiles, car il admet la mobilité de la *Sarcina ureae*. Ce que ces auteurs combattent (et nous nous

rallions pleinement à leur avis), c'est l'affirmation d'Ellis que l'on peut rendre mobiles et ciliées, par des repiquages fréquents, *toutes les Coccaceae*.

Migula, dans son « System der Bakterien » (1900), décrit environ 250 espèces de *Coccaceae*, dont 10 mobiles et ciliées. Bergey mentionne dans la dernière édition (1934) de son « Manual of Determinative Bacteriology », 5 espèces mobiles de *Coccaceae*. Mais il s'agit ici toujours de *Micrococcus* ou de sarcines mobiles (d'après la terminologie de Migula : *Planococcus* et *Planosarcina*).

Par contre, les Streptococcées ont été généralement considérées, jusqu'à ces derniers temps, comme absolument immobiles.

STREPTOCOCÉES MOBILES

Historique. — Th. Billroth (1874) paraît avoir été le premier à observer des streptocoques mobiles. D'après cet auteur, on rencontrerait assez fréquemment « des courtes chainettes de *Micrococcus* » mobiles, tandis que la mobilité des chainettes comprenant 10 à 20 éléments de « *Strepto-Micrococcus* » serait rare. Toutefois, la description de ces microbes donnée par Billroth est insuffisante pour qu'on puisse se prononcer sur leur nature.

Flatzek décrit, en 1919, un diplocoque lancéolé, prenant le Gram, formant en bouillon également de courtes chainettes et manifestant dans ce milieu, surtout en cultures obtenues à la température du laboratoire, une mobilité très nette. Ce microbe a été isolé des matières fécales humaines. Les formes en diplocoques aussi bien que les chainettes étaient entourées d'une « couronne de nombreux et longs cils » ondulés. Lorsqu'il s'agissait de diplocoques, l'auteur a vu de 6 à 8 cils. Il parle de cils pérित्रiches. Flatzek, qui considère ce microbe comme se rapprochant du *Str. acidi lactici*, l'a nommé *Bactérium libaviense*, en ajoutant que ce nom devrait, le cas échéant, être remplacé par celui de *Streptococcus libaviensis*.

Schieblich (1932) isole du fourrage vert 2 souches qui, sauf la présence de cils, étaient, du point de vue morphologique, identiques au *Str. acidi lactici* Grotenfeld. Cependant,

en cultures jeunes en bouillon, ces cocci se sont montrés vivement et activement mobiles, aussi bien cultivés à 37° qu'à la température du laboratoire. L'auteur n'a jamais observé plus de 2 cils partant d'une cellule. Le plus souvent, il s'agirait de cils polaires. En cultures plus âgées, il n'y a que quelques individus mobiles. En bouillon alcalin, la culture pousse plus lentement et peu abondamment ; les cocci sont plus petits et plus arrondis et la mobilité manque complètement ou presque complètement. Il a dénommé ses 2 souches mobiles *Streptococcus herbarum* n. sp.

Henneberg (1934), dans son manuel « Bakteriologische Molkereikontrolle » (« Contrôle Bactériologique de l'Industrie laitière »), signale également l'existence de streptocoques activement mobiles, tout en disant qu'on les trouve très rarement. Il n'indique pas les caractères de ces microbes.

Koblmüller (1935) a isolé 10 souches mobiles d'entérocoques dont il a fait une étude très approfondie. Il a eu l'occasion d'étudier également les 2 souches de Schiebllich (*Str. herbarum*). Toutes ces souches présentent les caractères essentiels des entérocoques.

Nous ne pouvons pas entrer ici dans tous les détails du travail remarquable de Koblmüller. Notons seulement les points les plus importants. D'après cet auteur, la réaction du milieu la plus favorable pour la recherche de la mobilité des souches étudiées par lui correspond à pH=6,8—6,6. Par contre, en bouillon faiblement alcalin (pH=7,2—7,3) il ne trouve, en cultures âgées de dix à douze heures, que peu d'éléments mobiles. La mobilité elle-même est, dans ces conditions, affaiblie. En milieu encore plus fortement alcalin, la mobilité est presque nulle. Nous insistons sur ce point car, comme nous le verrons plus loin, ces faits ne correspondent pas aux résultats que nous avons obtenus avec les souches étudiées par nous.

Nous avons déjà indiqué, dans le chapitre consacré à la technique, le procédé dont l'auteur se sert pour la mise en évidence de la mobilité. Rappelons seulement qu'il préconise l'emploi du micromanipulateur construit par lui et par Vierthaler, au moyen duquel on peut observer directement la mobilité des microbes sur la surface de la gélose en boîtes de Petri.

L'addition de glucides est, d'après Koblmüller, inutile pour la recherche de la mobilité. L'addition de protéides (sérum, ascite) en quantité plus ou moins importante exerce une action inhibitrice sur la mobilité. Ce n'est pas le cas si ces substances sont bouillies. Ainsi, on observe une mobilité nette sur la gélose de Levinthal ou sur le sérum de Loeffler.

La température du laboratoire est, comme nous l'avons déjà dit d'ailleurs plus haut, plus favorable pour l'obtention de cultures mobiles que la température de l'étuve, le vieillissement des cultures se produisant beaucoup plus rapidement à 37° qu'à 22°.

Koblmüller a observé, le plus souvent, 1 à 2 cils partant d'une cellule, plus rarement 3 ou 4 cils. Quant à la disposition des cils, l'auteur suppose qu'il y a tantôt des cils polaires, tantôt des cils latéraux, mais il démontre, à l'aide de dessins schématiques, la difficulté de se prononcer à ce sujet.

En comparant ses 10 souches d'entérocoques mobiles (qu'il appelle aussi « *Milchsäurestreptokokken* », *Str. acidilactici* Grotenfeld) ainsi que les 2 souches de *Str. herbarum* de Schiebllich avec le *Sr. libaviensis* de Flatzek, Koblmüller constate que ce dernier ne se distingue des autres souches que sur deux points : sa culture est nettement inhibée dans des conditions anaérobies et il donne sur gélose des colonies d'aspect particulier (après vingt-quatre heures, Flatzek a observé de petites colonies rondes, surélevées, en gouttes de rosée ; après quarante huit heures, les colonies ont un millimètre de diamètre, elles sont aplaties ; la partie centrale, homogène, forme une concavité, entourée d'un bourrelet plus élevé, granuleux ; au fur et à mesure que les colonies grandissent, la différence entre la partie centrale et la partie périphérique disparaît).

Ajoutons encore quelques détails donnés par Koblmüller : toutes ses souches ainsi que celles de Schiebllich sont thermorésistantes (trente minutes à 60°). Elles donnent un trouble homogène en bouillon. Elles poussent abondamment, avec trouble homogène, en bouillon additionné de 50 p. 100 de bile de bœuf. Toutes les souches dédoublent l'aesculoside. Le manitol est fermenté par 9 souches sur 10 de Koblmüller ainsi que par les 2 souches de Schiebllich. Les deux souches de Schiebllich et deux de Koblmüller donnent, surtout sur sérum

de Löffler et sur pomme de terre, des colonies jaunâtres.

Il nous paraît intéressant de signaler une observation de Koblmüller qu'il a eu l'amabilité de nous communiquer. Une des souches d'entérocoques mobiles isolée d'une souris et étudiée par ce chercheur, a donné, ensemencée sur gélose, deux sortes de colonies : les unes étaient constituées par des formes mobiles, les autres par des formes immobiles. Koblmüller a pratiqué alors des isolements à partir de cellules uniques, et il a obtenu 2 souches différentes : l'une mobile, l'autre immobile. Ces souches se distinguaient, en outre, par certains caractères biochimiques. Observées pendant dix-huit mois (les souches ont été ensuite égarées), elles n'ont pas changé : l'une s'est montrée toujours mobile, l'autre toujours immobile.

Margaret Pownall (1935) a décrit 4 souches d'entérocoques mobiles.

La réaction des milieux employés par cet auteur correspondait à $\text{pH} = 7,6$. Le milieu le plus favorable pour la manifestation de la mobilité serait le bouillon additionné de sérum inactivé (sérum de cheval, de lapin, de cobaye ou sérum humain). La mobilité serait la plus intense après six à huit heures d'incubation à 37° ; après dix-huit à vingt-quatre heures, elle est faible, après une incubation encore plus prolongée elle est nulle. Les 4 souches produisent le dédoublement de l'aesculoside et la fermentation du mannitol ; elles résistent pendant vingt minutes au chauffage à 60° , mais ne supportent pas cette température pendant trente minutes. En bouillon, il se forme un trouble homogène sans dépôt. En bile pure ces germes poussent faiblement. Sur gélose au sang, il y a une aréole verte autour des colonies, le milieu s'éclaircissant ensuite. L'auteur a observé le plus souvent 1 seul cil partant d'un coccus ou d'un diplocoque, plus rarement 2 cils, mais il n'y avait jamais de cils aux deux pôles. La position des cils était toujours latérale.

Stölting (1935) a isolé, du fromage de Tilsit, 12 souches mobiles de streptocoques. L'auteur les identifie comme des souches atypiques de *Str. bovis* se rapprochant du *Str. inulaeus*.

En bouillon non sucré, ces souches ne donnaient, après vingt-quatre heures, qu'une culture à peine visible, le bouillon lactosé était, par contre, fortement troublé. Le mannitol était

fermenté par 10 souches sur 12, l'aesculoside n'était dédoublé que par 2 souches. Quant à la thermorésistance, l'auteur indique que 2 souches ont été tuées par chauffage de trente minutes à 63°. La mobilité a été recherchée en cultures en bouillon lactosé additionné de craie, obtenues à 30° et à 37° après vingt-quatre heures d'incubation. En gardant ensuite les cultures à la température du laboratoire, l'auteur a pu constater la présence de quelques éléments encore mobiles après deux à quatre jours. Par contre, en bouillon lactosé sans craie, l'auteur n'a observé qu'exceptionnellement, en cultures de vingt-quatre heures, une mobilité faible. Il n'a jamais observé plus de 2 cils partant d'une cellule. La position des cils était latérale.

Recherches personnelles. — Nous avons eu l'occasion d'étudier 44 souches d'entérocoques, dont 3 se sont montrées mobiles (1937, 1938).

Deux de ces souches ont été isolées dans le laboratoire de M. Weinberg, à l'Institut Pasteur (une des souches provient d'un appendice, l'autre des fragments de l'utérus d'une vache atteinte de gangrène gazeuse du part; cette dernière souche est désignée ici comme souche Vache f.). Nous devons les 42 autres souches à l'obligeance du Dr Kurt Meyer (Laboratoire de la Fondation franco-américaine, Berck-Plage); ce sont en partie ses souches personnelles, en partie des souches provenant du laboratoire du Prof. K. Aoki (Sendai, Japon). Leur origine est différente : pus, sang, matières fécales, urine (pyélite).

Nous nous servons ici du nom d'entérocoque (Thiercelin, 1899) qui, nous le savons bien, n'est pas conforme à la nomenclature botanique, mais qui est couramment employé en bactériologie. Nous préférons garder ce nom provisoirement, en attendant que la classification et la nomenclature des *Coccaeae* soient refaites. En voici les raisons. Le nom de *Micrococcus ovalis* (Escherich, 1899) n'est plus employé et il a le défaut de ranger ce microbe dans le genre *Micrococcus* et non *Streptococcus*. Le *Streptococcus enteritis* (Hirsh et Libman, 1897), qui aurait la priorité, paraît, d'après Dible, ne pas correspondre à l'entérocoque. D'autre part, le nom de *Streptococcus faecalis* (Andrewes et Horder 1906) n'a pas la priorité.

En outre, on rencontre encore d'autres désignations pour ce microbe, que nous avons déjà mentionnées : *Str. acidi lactici* Grotenfeld, « Milchsäurestreptokokken », etc. Etant donné cette multiplicité de noms nous préférons utiliser la désignation la plus courante.

Pour l'identification des entérocoques, nous nous sommes basé sur les travaux de Dible (1921), de Weatherall et Dible (1929) et surtout de K. Meyer (1936). A côté de l'aspect morphologique, les caractères les plus constants des entérocoques sont les suivants : thermorésistance (trente minutes à 60°), résistance vis-à-vis de la bile, dédoublement de l'aesculoside (esculine), trouble homogène en bouillon. La fermentation du mannitol est aussi un caractère important mais moins constant. Nous nous sommes servi également de la réaction de Violle (1935) basée sur la résistance des entérocoques à l'action du ricinoléate de soude à 4 p. 1.000 pendant une heure. Toutefois, nous ne pouvons pas nous prononcer définitivement sur la valeur diagnostique de cette réaction (qui nous paraît cependant être importante), le nombre des souches de « vrais » streptocoques employé par nous à titre de témoins n'étant pas suffisant. Sur 44 souches étudiées, nous avons obtenus les résultats suivants : thermorésistance, 44 souches; culture abondante en bouillon bilié à 50 p. 100, 44 souches ; dédoublement de l'aesculoside, 44 souches ; trouble homogène en bouillon, 43 souches; fermentation du mannitol, 34 souches; réaction de Violle positive, 43 souches.

Nous tenons à donner ici quelques précisions sur la composition de nos milieux de culture. Nous avons toujours employé (sauf pour la recherche du dédoublement de l'aesculoside) le bouillon Vf (Weinberg et Goy). Ce bouillon, à base de produits de digestion de viande et de foie de bœuf et destiné surtout aux anaérobies, est aussi un excellent milieu pour la culture des aérobies. Actuellement ce bouillon est préparé, dans le laboratoire de M. Weinberg, d'après un procédé nouveau : les panses de porc sont remplacées par la pensine sèche du commerce. Les proportions de viande et de foie sont les suivantes : 4 kilogrammes de viande et 1 kilogramme de foie pour 20 litres d'eau. On y ajoute la quantité nécessaire de pepsine suivant son titre (10 grammes de pepsine si le titre est de 500) ainsi que 200 c.c. de HCl pur. On

chauffe pendant 24 heures à 48°. Puis, pour arrêter la digestion, on chauffe jusqu'à 80°. On laisse refroidir, on filtre, on ajuste le pH, etc. La gélose employée par nous est également préparée avec du bouillon Vf.

Pour la recherche du dédoublement de l'aesculoside, nous nous servons toujours du procédé de Kurt Meyer (1928) : on ensemence la souche à étudier dans du bouillon nutritif ordinaire additionné de 2 p. 1.000 d'aesculoside. Après une incubation de vingt-quatre à quarante-huit heures à 37°, on ajoute 1 goutte d'une solution très diluée (jaune clair) de chlorure ferrique. Si la réaction est positive, il se produit instantanément un noircissement intense.

Les 44 souches d'entérocoques ont toutes été étudiées par nous dans les conditions de cultures les plus variées, à savoir:

Eau de condensation de gélose Vf (p H = 7,6 — 7,8), cultures âgées de 3-6 heures;

Même milieu, cultures à la température du laboratoire âgées de 16 à 18 heures;

Eau de condensation de gélose Vf (p H = 6,5 environ), cultures à 37° âgées de 3-6-8 heures;

Même milieu, cultures à la température du laboratoire, âgées de 16-18 heures;

Bouillon Vf (p H = 7,6 — 7,8) cultures de 16-18 heures à 37°;

Même milieu, cultures de 16-24 heures à la température du laboratoire;

Bouillon Vf (p H = 7,6 — 7,8) glucosé à 2 p. 1.000, cultures à 37° et à la température du laboratoire, âgées de 16-18-24 heures;

Bouillon Vf (p H = 6,5 environ), cultures à 37° et à la température du laboratoire, âgées de 16-18-24 heures;

Bouillon lactosé + craie, cultures à 37° et à la température du laboratoire, âgées de 16-18-24 heures;

Bouillon + sérum inactivé de cheval, cultures à 37° et à la température du laboratoire, âgées de 16-18-24 heures;

Lait, cultures à 37° et à la température du laboratoire, âgées de 16-18 heures.

En étudiant les 44 souches d'entérocoques, nous avons constaté que 3 souches (*Lie*, *Shigeno* 10 et *Vache f.*) sont mo-

biles et ciliées, tandis que les 41 autres souches, étudiées dans les mêmes conditions, ne manifestent aucune mobilité et ne possèdent pas de cils.

Les 3 souches mobiles sont, abstraction faite de leur mobilité, des souches typiques d'entérocoques ; elles présentent les caractères suivants :

Morphologie : diplocoques et chaînettes plus ou moins courtes. Les cellules sont, dans la plupart des cas, légèrement ovalaires. Ils prennent le Gram.

Cils : On en observe, en cultures jeunes, surtout sur des formes en diplocoques (fig. 7), mais aussi sur des courtes chaînettes. Dans la plupart des cas, nous n'avons vu que 1 à 2 cils partant d'une cellule, exceptionnellement jusqu'à 4, jamais davantage. Disons, toutefois, que les cils des entérocoques sont tellement fragiles (comme l'a fait remarquer déjà Koblmüller) qu'il nous paraît très difficile, sinon impossible, de nous prononcer d'une façon définitive sur le nombre maximum des cils. La disposition des cils est le plus souvent nettement latérale ; parfois, on a l'impression de voir des cils polaires.

Caractères cultureux et biochimiques : Sur gélose, colonies qui ne se distinguent en rien des colonies typiques d'entérocoques. *Bouillon* : trouble homogène, dépôt plus ou moins visqueux. Le milieu s'éclaircit lentement et progressivement de haut en bas. *Bouillon bilié* à 50 p. 100 environ ; culture très abondante. *Eau peptonée* à 2 p. 100 : culture peu abondante. Thermorésistance : trente minute à 60°. Les 3 souches résistent à l'action du ricinoléate de soude à 4 p. 1.000 pendant une heure (réaction de Violle). Le mannitol est fermenté. L'aesculoside est dédoublé.

Rôle du pH du milieu. — Nous avons examiné toutes les souches dans des milieux dont la réaction correspondait d'une part à pH = 7,6 à 7,8 et à pH = 6,5 environ d'autre part.

Les souches *Lie* et *Shigeno* 10 se sont montrées mobiles aussi bien en milieux alcalins qu'en milieux légèrement acides.

Par contre, les milieux alcalins (pH = 7,6 à 7,8) paraissent mieux convenir à la souche *Vache f.* Toutefois, en exa-

minant une culture en bouillon légèrement acide ($\text{pH} = 6,5$ environ), obtenue à la température du laboratoire et âgée de seize à dix-huit heures, nous avons observé, chez cette souche, également quelques éléments activement mobiles, traversant rapidement le champ de vision. Dans l'eau de condensation de la gélose inclinée acide, il n'y a pas encore de culture après trois à quatre heures à 37° . Par contre, dans le même milieu acide nous avons observé des éléments nettement mobiles après dix-huit heures de séjour à la température du laboratoire.

Influence de la température : Les 3 souches sont mobiles dans des cultures obtenues à 37° et à la température du laboratoire. Cependant, la température du laboratoire est plus favorable du point de vue de la mobilité.

Le comportement des 3 souches n'est pas le même en ce qui concerne l'influence de la température: ainsi, en étudiant les souches *Lie* et *Shigeno* 10, nous avons pu observer des éléments encore nettement mobiles dans des cultures de vingt-quatre heures en bouillon ($\text{pH} = 7,6$ à $7,8$) obtenues à l'étuve à 37° et gardées ensuite pendant quarante-huit heures à la température du laboratoire. La souche *Vache f.*, cultivée à 37° en bouillon, était déjà immobile après seize à dix-huit heures. Dans des cultures du même âge, obtenues à la température du laboratoire, il y avait encore quelques éléments faiblement mobiles. En bouillon glucosé à 2 p. 1.000, cette souche s'est montrée encore très mobile après dix-huit à vingt-quatre heures à la température du laboratoire, tandis qu'en culture du même âge obtenue à 37° elle était déjà immobile ou bien ne contenait que quelques rares éléments faiblement mobiles. En bouillon lactosé additionné de craie (c'est dans ce milieu que Stölting constate le plus facilement la mobilité de ses souches) il y a, après seize à dix-huit heures à 37° , encore des éléments mobiles, mais on observe très nettement la prédominance des mouvements de rotation. Cultivée à la température du laboratoire dans le même milieu, cette souche est encore très mobile après vingt-quatre heures et l'on observe alors nettement des mouvements de translation. Notons en passant un fait curieux : la souche *Vache f.*, dont la mobilité

est la plus difficile à constater, a été beaucoup plus récemment isolée que les souches *Lie* et *Shigeno* 10.

Discussion des résultats. — Si nous comparons les résultats de nos recherches que nous venons d'exposer, avec les résultats des autres auteurs, nous pouvons tout d'abord constater que, parmi les Streptococcées mobiles que l'on connaît jusqu'à présent, il y a sans aucun doute des entérocoques. Nous considérons comme entérocoques mobiles les 2 souches de Schiebllich, les 10 souches de Koblmüller, les 4 souches de Pownall et les 3 souches que nous venons de décrire. Pour la souche de Flatzek (« *Str. libaviensis* ») nous sommes moins affirmatifs, surtout à cause du fait que sa culture serait inhibée par les conditions anaérobies. Par contre, les souches mobiles décrites par Stölting paraissent en effet ne pas être des entérocoques (culture à peine visible en bouillon non sucré, dédoublement de l'aesculoside par 2 souches seulement sur 12).

Il y a certaines divergences entre nos résultats et ceux des autres auteurs, notamment de Schiebllich et de Koblmüller, surtout quant aux pH du milieu le plus favorable pour la mobilité. Mais ceci peut provenir d'une différence individuelle des souches étudiées, en partie peut-être aussi de la composition différente des milieux.

Il nous paraît d'ailleurs inutile (et là nous sommes d'accord avec Koblmüller), de vouloir créer, pour ces formes mobiles, des noms d'espèces nouvelles. Nous les considérons (au moins pour le moment) comme des souches mobiles d'espèces microbiennes dont on ne connaissait, jusqu'à ces derniers temps, que des souches immobiles.

Recherches sérologiques sur les entérocoques mobiles. —

Koblmüller a préparé des sérums agglutinants avec ses souches. L'agglutination serait tantôt granuleuse, tantôt floconneuse. L'auteur n'a pas approfondi la question des types sérologiques, estimant insuffisant le nombre des souches mobiles connues jusqu'à présent.

Pownall a également fait des recherches sérologiques sur les entérocoques mobiles. Le taux d'agglutination obtenu avec le même sérum serait le même pour les quatre souches isolées

par cet auteur. La même constatation a été faite pour la fixation du complément. Les tentatives de cet auteur pour mettre en évidence l'antigène H n'ont pas donné de résultat.

Recherches sérologiques personnelles

Nous avons fait les constatations suivantes avec les souches que nous avons étudiées. Le sérum préparé avec la souche *Vache f.* donne le même taux d'agglutination avec la souche homologue et avec la souche hétérologue *Shigeno 10*. Ces deux souches mobiles appartiennent donc au même type sérologique.

La troisième souche mobile (souche *Lie*) n'est pas agglutinée par les sérums préparés avec les souches *Vache f.* et *Shigeno 10*. Par contre, elle est agglutinée par le sérum préparé avec la souche immobile 22 appartenant au type sérologique IV de Kurt Meyer. Cette constatation nous paraît particulièrement intéressante. Elle montre qu'une souche mobile d'entérocoque peut appartenir au même type sérologique qu'une souche immobile.

CONCLUSIONS

1°. — L'existence de souches mobiles d'entérocoques nous paraît être établie définitivement.

2°. — Il y a encore d'autres Streptococcées mobiles (souches mobiles et atypiques de *Str. bovis* décrites par Stölting).

3°. — Le nombre de cils que l'on a observés jusqu'à présent chez les entérocoques mobiles ainsi que chez les autres Streptococcées mobiles est le plus souvent de 1 à 2, exceptionnellement jusqu'à 4.

4°. — Les trois souches mobiles d'entérocoques étudiées par nous appartiennent à deux type sérologiques différents.

5°. — Une de ces trois souches mobiles appartient au même type sérologique qu'une des souches immobiles.

CHAPITRE V.

Perte et acquisition des cils et de la mobilité des bactéries

A. — *Existe-t-il des bactéries ciliées, mais immobiles ?*

Historique. — Nous avons déjà eu l'occasion de dire, au début de ce travail, que A. Fischer avait déclaré en 1895 que les bactéries immobiles ne possèdent pas de cils. Cette conception est devenue classique. Cependant, il nous paraît intéressant d'indiquer ici les observations de quelques auteurs qui se trouvent en contradiction avec cette conception.

Nous avons déjà mentionné plus haut que Vedder et Duval (1901-1905) auraient réussi à mettre en évidence les cils des bacilles dysentériques (Shiga, Flexner, Strong, Kruse) en utilisant des cultures sur gélose âgées de 12 heures au maximum et en se servant d'une modification de la méthode de Van Ermengem. (Disons en passant que la question de savoir s'il s'agissait vraiment de bacilles dysentériques, si intéressante qu'elle soit, est ici pour nous sans aucune importance). Les cils seraient très nombreux, leur disposition serait péritriche. Ils seraient 8 à 10 fois plus longs que le corps bactérien. Malgré la présence de ces cils, les auteurs n'ont jamais observé la moindre mobilité chez aucune de leurs souches. Néanmoins, en se basant justement sur la présence de cils, ils supposent qu'il s'agit de microbes mobiles, mais que lors, de leurs observations, ils se trouvaient dans des conditions qui avaient supprimé la mobilité, ou bien que les observations ont été faites à un moment où la mobilité s'était déjà arrêtée.

Grandi (1903), dans son mémoire fort intéressant sur les cils du *B. tetani*, prétend que ce n'est que tout à fait excep-

tionnellement qu'on arrive à voir un véritable mouvement de translation de ce microbe. Dans la plupart des cas les bacilles tétaniques seraient absolument immobiles. Parfois on observerait non pas une véritable mobilité, mais tout au plus un changement de position. Quant aux cils, l'auteur en a observé, suivant la période du développement, tantôt 50 à 70, tantôt 20 à 30, tantôt des tresses. Le nombre de cils n'aurait aucune relation avec l'intensité de la mobilité (et celle-ci ferait même, comme nous venons de le dire, complètement défaut dans la plupart des cas).

O. Fischer (1910) a isolé d'un typhique une souche de *B. typhi* (souche Schilz) munie de cils mais ne manifestant aucune mobilité. La souche en question a été identifiée, comme étant vraiment une souche du bacille typhique, par tous les procédés, y compris l'agglutination et le phénomène de Pfeiffer. Ni les cultures sur des milieux de différente composition, ni les passages sur animaux n'ont rien changé: la souche reste toujours ciliée et toujours immobile. Il y eut, dans la famille du malade, un cas d'infection. L'auteur en a de nouveau isolé le même bacille typhique cilié mais immobile. En se basant sur ces observations, il arrive à une conclusion concernant le diagnostic bactériologique du *B. typhi*. Il considère la coloration des cils comme indispensable, car, d'après lui, le bacille typhique *doit* être cilié, mais *peut* être immobile. Toutefois, l'auteur écrit dans un « addendum », qu'après des repiquages répétés en bouillon et en cultures « très jeunes » (10 à 12 heures à 37°) la souche est devenue mobile, bien que sa mobilité soit plus lente que celle des autres souches du *B. typhi*.

Plasaj et Pribram (1921), en étudiant les différents représentants du groupe de la septicémie hémorragique, arrivent à la conclusion que c'est à tort qu'on donne la définition de ce groupe comme étant immobile et dépourvu de cils. Un tiers des souches examinées étaient mobiles. De plus, deux tiers des souches étaient ciliées. En d'autres termes, il y a, d'après ces auteurs, des souches ciliées ne présentant aucune mobilité, surtout parmi celles à un seul cil.

Colquhoun et Kirkpatrick (1932) auraient également observé des formes ciliées mais immobiles de certaines bactéries (*B. typhi*, *B. proteus*, etc.).

Avant de nous prononcer sur les observations que nous

venons de relater, nous allons donner ici les résultats de nos observations personnelles. En effet, nous avons eu, au cours de ces dernières années, l'occasion d'examiner, du point de vue de la mobilité et de la présence de cils, un nombre assez considérable d'espèces bactériennes. Nous tenons à exposer ces observations avec quelques détails, d'autant plus que ces données nous seront utiles plus loin, lorsque nous traiterons le problème de la perte des cils dans les cultures entretenues pendant longtemps en milieux artificiels.

Observations personnelles

Microbes anaérobies. — Partout où il n'y a pas d'indications spéciales, il s'agit de cultures de 16 à 20 heures en bouillon Vf glucosé à 2 p. 1.000, en tubes de Hall. Les examens des cultures vivantes ont été faites en tubes capillaires scellés. Les colorations des cils ont été pratiquées par la méthode de Loeffler, par la méthode originale de Casares-Gil ainsi que par la modification de ce dernier procédé mise au point par nous. Pour ne pas allonger démesurément ce travail, nous ne donnons ici que les résultats obtenus par notre procédé. Rappelons ici ce que nous avons déjà dit plus haut, dans le chapitre consacré à la technique : le procédé que nous préconisons s'est montré plus sûr que la méthode de Loeffler et même que la méthode originale de Casares-Gil. Ajoutons encore que, sauf indications contraires, il s'agit de vieilles souches de collection.

Espèces microbiennes	Mobilité	Cils
<i>V. septique</i>	Mobile	Cilié
<i>B. sporogenes</i>	Mobile	Cilié
<i>B. parasporgen</i>	Mobile	Cilié
<i>Cl. flabelliferum</i>	Mobile	Cilié
<i>B. œdematiens</i> :		
Souche 128	Mobile	Ciliée
Souche Debonera	Mobile	Ciliée
Souche Pygnot	Mobile	Ciliée
Souche Kreguer (fraichement isolée)	Mobile	Ciliée
Souche Dommange A.	Mobile, mais la mobilité est difficile à constater.	Ciliée
Souche Dommange B.	Comme la souche précédente	Ciliée
Souche X Lard	Mobile	Ciliée
Souche 149	Mobile	Ciliée
<i>B. chauvosi</i> :		
Souche Turc (culture de 15 et de 24 heures)	Aucune mobilité observée.	Cils non observés
Souche Vallée	Aucune mobilité observée.	Cils non observés
Souche Y (tube scellé de bouillon avec un cube de blanc d'œuf, conservé depuis 1919 et ouvert par nous en 1935).	Repiquée sur du milieu frais, cette souche s'est montrée d'emblée mobile, bien que très faiblement.	Ciliée
<i>B. botulinus</i> :		
Type A	Mobile	Cilié
Type B	Mobile	Cilié
Type C	Mobile	Cilié
Type D (culture de 15 et de 24 heures).	Mobilité non observée.	Quelques bâtonnets très rares étaient munis de 1-2-3 cils (en bouillon de Tarozzi). Coloration très difficile.

Espèces microbiennes	Mobilité	Cils
<i>B. tetani</i> :		
Souche 1	Mobile	Ciliée, cils très fins et très nombreux.
Souche 2	} Aucune mobilité observée. }	Cils non observés
Souche 3		
Souche 4		
Souche 5		
Souche 444	Mobile	Ciliée, cils moins nombreux et moins fins que chez la souche 1.
		Ciliée, cils très fins.

(Les souches 1, 2, 3, 4 et 5 du *B. tetani* proviennent de la collection de M. Weinberg, -la souche 444 est d'origine américaine.)

<i>B. sphenoides</i> (culture de 15 heures à 30°).	Mobile, mais mobilité difficile à constater.	Cilié. Les cils sont très fragiles. Coloration des cils est assez difficile.
<i>B. cochlearius</i> (culture de 15 heures à 30°).	Comme le <i>B. sphenoides</i> .	Comme le <i>B. sphenoides</i> .
<i>B. difficilis</i> (culture de 15 h. à 30°).		
Souche 6.241	Mobile, mais la mobilité active est difficile à constater.	Cils assez nombreux mais extrêmement fins. Coloration difficile.
Souche 4.454	Comme la souche précédente.	Comme la souche précédente.

Espèces microbiennes	Mobilité	Cils
<i>B. aerofoetidus</i> (culture de 15 heures à 37° et à 30°).		
Souche Kr.	Mobilité douteuse.	Nettement ciliée en cultures à 30°.
Souche Grand Palais	Mobilité non observée.	Cils non observés
<i>B. lentoputrescens</i> (culture en bouillon non sucré additionné de craie).		
Souche Old	Mobiles	Ciliées.
Souche Doz		
<i>B. bifermentans</i> (cultures de 3 à 4 heures à 37°).		
Souche Nigoul } fraîchement Souche Ovari } isolées	Mobilité très nette	Nombreux cils péritriches.
Souche H		
Souche Grumbach I		
Souche Grumbach II		
Souche Grumbach III		
Souche Grumbach fraise		
Souche Prévot		
Souche Durieux		
Souche 137		
Souche Hall « Centrosporogenes ».		
<i>B. histolyticus</i> :		
Souche Delombe	Immobile	Non observés.
Souche Baudet	Immobile	Non observés.
Souche Guén.	Immobile	Non observés.
Souche Let.	Très mobile	Nombreux cils péritriches
<i>B. sordellii</i> (souche Drouen)	Mobile	Ciliée
<i>B. haemolyticus bovis</i>	Mobile	Cilié

Microbes aérobies. — Le nombre des espèces aérobies que nous avons examinées étant moins grand que celui des espèces anaérobies, nous pouvons être ici plus bref.

Nous avons eu, entre autre, l'occasion d'étudier 38 souches désignées comme « *B. coli* ». Sans entrer dans les détails, disons que les souches ciliées étaient toujours nettement mobiles. Ajoutons encore, à titre documentaire, que parmi ces 38 souches il y avait 18 souches mobiles et 20 souches immobiles.

Rappelons ici nos recherches sur les entérocoques : sur 44 souches étudiées, nous avons trouvé 3 souches mobiles et ciliées. Les 41 autres souches d'entérocoques, examinées, comme nous l'avons déjà indiqué, dans les conditions les plus variées, se sont montrées toujours immobiles et dépourvues de cils.

Nous avons eu l'occasion d'étudier deux souches du bacille d'Aertrycke — souche O et souche R — que nous devons à l'obligeance de Dr Kurt Meyer (Laboratoire de la Fondation franco-américaine, Berk-Plage) et dont nous parlerons encore plus loin. Nous nous contentons d'indiquer ici que ces deux souches se sont montrées toujours immobiles et dépourvues de cils.

Quant au bacille typhique, les quelques souches examinées par nous étaient toujours ciliées et toujours mobiles, sauf la souche O 901 de Félix (nous reviendrons plus loin sur les expériences que nous avons faites avec cette souche).

Signalons, enfin, que la *Sarcina ureae* dont nous avons donné plus haut une photomicrographie, est non seulement ciliées, mais aussi très vivement mobile.

Avant de passer à la discussion des résultats de nos observations et de ceux des auteurs précités, nous tenons à signaler ici une observation qui nous paraît être assez intéressante. En examinant, en goutte pendante, une culture du *B. proteus*, sur gélose inclinée, âgée de 20 heures environ, nous fûmes une fois fortement surpris de ne pouvoir constater aucune mobilité. Notre étonnement fut d'autant plus grand que l'ensemencement avait été effectué au fond du tube (dans l'eau de condensation) et que la culture avait grimpé sur la gélose, en envahissant toute sa surface. Il s'agissait donc, d'après l'aspect macroscopique de la culture, sans aucun doute d'une souche H. Intrigué par ce curieux phénomène nous avons

tout d'abord refait à plusieurs reprises l'examen en goutte pendante en prélevant le matériel dans l'eau de condensation et en prenant soin de bien refroidir au préalable notre anse de platine. Le résultat fut toujours le même : malgré l'examen le plus attentif, nous ne sommes parvenus à constater aucune mobilité. Nous avons alors procédé immédiatement à la coloration des cils et nous avons d'emblée réussi à mettre en évidence des bâtonnets munis de nombreux cils péritriches. Nous avons repiqué notre souche, pour essayer d'élucider les causes de ce phénomène étrange. Cependant, il ne s'est jamais plus reproduit : toutes les subcultures que nous avons examinées maintes fois dans les mêmes conditions se sont toujours montrées mobiles. Nous ne trouvons donc qu'une explication possible de ce phénomène : la souche était sans aucun doute mobile dès le début (l'aspect macroscopique de la culture en est la preuve), mais, au moment de l'examen en goutte pendante, il s'était produit, pour des raisons que nous ignorons, un arrêt du mouvement flagellaire (« Geisselstarre » des auteurs allemands).

Nous nous sommes attardés à la description et à l'interprétation de cette observation, qui pourrait paraître insignifiante, pour la raison suivante. Admettons qu'il s'agissait non pas du *B. proteus*, mais du *B. coli*, du bacille typhique ou de n'importe quel autre microbe dont la forme H n'a pas la propriété de se répandre sur toute la surface de la gélose en formant une nappe continue. Dans ce cas, on aurait pu très facilement conclure que l'on avait observé une souche ciliée, mais immobile.

Discussion des résultats. — En résumant nos observations nous arrivons à la constatation que dans la majorité écrasante des cas les microbes *ciliés* examinés par nous étaient mobiles. Tant qu'il s'agissait des aérobies, c'était même toujours le cas. L'observation que nous avons faite une seule fois sur une souche du *B. proteus*, n'infirme nullement cette constatation, car il ne s'agissait pas d'une souche immobile, mais d'un arrêt du mouvement ciliaire.

Quant aux anaérobies, le seul cas qui pourrait être interprété comme exemple d'une souche ciliée, mais immobile, est celui du *B. botulinus type D*. Cependant, à notre avis cette interprétation serait absolument fausse. En effet, en exami-

nant un grand nombre de préparations, nous n'avons pu trouver que quelques bâtonnets très rares munis de cils très peu nombreux. Dans ces conditions, les éléments encore mobiles ont pu très facilement échapper à notre observation. D'autre part, nos observations sur quelques autres microbes, chez lesquels nous avons trouvé soit une « mobilité difficile à constater » (*B. oedematiens* souches Dommange A et B, *B. sphe-noides*, *B. cochlearius*, *B. difficilis*) soit une « mobilité douteuse » (*B. aerofoetidus* souche Kr.), ne font que confirmer ce que nous avons déjà dit plus haut, dans le chapitre consacré à la technique, à savoir que la constatation de la mobilité, souvent très facile, est, dans d'autres cas, bien difficile.

Nous arrivons donc à la conclusion que *tous* les microbes *ciliés* examinés par nous sont mobiles.

Pour terminer, il faut nous prononcer sur les affirmations des auteurs déjà cités, qui auraient observé des bactéries ciliés, mais immobiles. Disons d'abord qu'il est toujours difficile de se prononcer d'une façon catégorique sur des souches que l'on n'a pas observées soi-même. On est toujours réduit, dans ces cas, à des suppositions sans preuves. Toutefois, le matériel assez abondant que nous avons examiné au cours de ces dernières années et dont nous venons de donner un aperçu, nous permet, nous le croyons du moins, d'exprimer ici notre opinion.

Vedder et Duval, qui auraient mis en évidence les cils des bacilles dysentériques, sans avoir jamais observé leur mobilité, supposent eux-mêmes qu'il s'agissait de microbes mobiles, dont la mobilité était déjà supprimée au moment de l'examen microscopique. Cette explication ne nous semble pas très concluante. Les auteurs ont examiné plusieurs souches et ce serait une coïncidence étrange que leurs examens aient toujours été pratiqués à un moment où les cils persistaient encore, alors que la mobilité était déjà arrêtée. Nous avouons ne pas pouvoir expliquer ces affirmations. Nous sommes, comme nous l'avons dit tout à l'heure, réduit à des suppositions plus ou moins arbitraires. Il pourrait s'agir ici d'une technique défectueuse de l'examen en goutte pendante, d'une confusion entre les « pseudocils » et les vrais cils, et d'autres causes d'erreurs encore.

Quant aux affirmations de Grandi selon lesquelles on ne

peut voir la mobilité active du *B. tetani* que tout à fait exceptionnellement, nous les contestons formellement, en nous basant sur nos observations personnelles. En effet, parmi les 6 souches examinées par nous, 3 souches avaient déjà perdu leurs cils et étaient immobiles, alors que les 3 autres étaient ciliées et présentaient, en tubes capillaires scellés, une mobilité nette.

Nous ne croyons pas que la souche Schilz du *B. typhi* isolée et étudiée par O. Fischer était vraiment immobile et que ce n'est que vers la fin de ses expériences qu'elle était devenue mobile. Si cet auteur s'était donné la peine d'examiner sa souche dès le début en « cultures très jeunes » il aurait sûrement constaté qu'elle était non seulement ciliée, mais aussi mobile. Le fait que la mobilité de cette souche est restée toujours plus lente que celle des autres souches de la même espèce n'a, à notre avis, aucune importance. Nous avons souvent observé ce phénomène en examinant plusieurs souches d'une même espèce bactérienne. Un autre fait nous frappe dans les observations de cet auteur : c'est la présence *constante* de cils à une période de la vie des bactéries pendant laquelle la mobilité ne se manifeste pas.

Nous ne pouvons pas non plus expliquer l'affirmation de Plasay et Pribram d'après laquelle un tiers des souches du groupe de la septicémie hémorragique étudiée par eux seraient ciliées mais absolument immobiles (surtout les souches à 1 seul cil). Notons en passant que les objections que nous trouvons chez Frache (1926) ne nous semblent pas toucher le problème. En effet, nous lisons chez cet auteur : « Pour nous, les faits étudiés par ces auteurs montrent l'hétérogénéité du groupe de la septicémie hémorragique, mais n'apportent aucun fait en faveur de la mutation ». Mais Plasay et Pribram voulaient justement démontrer l'hétérogénéité de ce groupe et, de plus, l'existence de formes ciliées, mais immobiles. La question de mutation est ici, semble-t-il, hors de cause. En outre, nous avons déjà dit plus haut que la question de savoir si tel microbe a été bien identifié, est ici tout à fait secondaire. Nous n'avons qu'à nous occuper ici de la question de savoir si, oui ou non, il existe des bactéries ciliées, mais immobiles.

Quant aux observations de Colquhoun et Kirkpatrick nous ne croyons pas qu'il s'agissait là de souches vraiment

immobiles. Les auteurs ont obtenu, à partir de leurs souches, des cultures mobiles en faisant des passages sur bouillon gélosé à 3 p. 1.000 et additionné de 5 p. 100 de gélatine. Or, nous avons déjà indiqué plus haut que c'est justement au moyen de culture sur milieux semi-solides que certains auteurs arrivent à séparer les éléments mobiles des éléments immobiles se trouvant dans la même culture. Nous sommes donc plutôt enclin à supposer qu'il s'agit de souches pauvres en éléments mobiles et non pas de souches immobiles. Les auteurs emploient d'ailleurs le terme « *apparently non-motile cultures* ».

Signalons en passant que ces auteurs auraient obtenu, par le procédé que nous venons d'indiquer, 3 souches mobiles sur 7 souches étudiées du *B. pestis* ainsi que quelques souches mobiles du *B. mallei*. De plus, ils auraient démontré la présence de cils chez *B. melitensis*. S'il ne s'agissait que de la mobilité, on pourrait invoquer une confusion avec le mouvement brownien qui est souvent très intense surtout chez le *B. mallei* et le *B. melitensis* (voir par exemple Boecker et Kauffman 1931). Quant aux cils dont les auteurs veulent avoir démontré la présence, il nous paraît que ces affirmations doivent encore être soumises à une vérification très rigoureuse.

En résumé, nous sommes très sceptique vis-à-vis de toutes les affirmations concernant les souches ciliées, mais immobiles. Nous insistons, encore une fois, sur le fait que la mobilité est parfois très difficile à constater, soit parce qu'elle est très faible, soit parce que la culture est très pauvre en éléments mobiles. D'autre part, nous rappelons la possibilité de confusion entre les vrais cils et les « pseudocils ».

B. — Perte des cils. — Acquisition des cils.

Historique. — Les problèmes que nous allons aborder maintenant présentent non seulement un intérêt théorique, mais ils ont aussi une grande importance du point de vue pratique. En effet, nous avons déjà eu l'occasion de parler des cils et de la mobilité en tant que caractère différentiel. Burckhardt (1914) à qui nous devons un travail de la plus haute valeur sur ce sujet, a formulé d'une façon très précise les problèmes à résoudre. Il s'est posé les questions suivantes:

1. Existe-t-il une perte *temporaire* des cils et de la mobi-

lité chez les espèces bactériennes normalement mobiles ?

2. Existe-t-il une perte *définitive* des cils et de la mobilité chez les espèces bactériennes normalement mobiles ?

3. Existe-t-il une acquisition *temporaire* des cils et de la mobilité chez les espèces bactériennes normalement immobiles ?

4. Existe-t-il une acquisition *définitive* des cils et de la mobilité chez les espèces bactériennes normalement immobiles ?

La réponse de l'auteur aux deux dernières questions est négative. Par contre, il admet la perte des cils et de la mobilité même définitive. Néanmoins, il arrive à la conclusion que la mobilité et les cils représentent un des caractères les plus constants et les plus importants pour la classification. Notons encore que l'auteur attache une grande importance non seulement à la présence ou l'absence de cils, mais aussi à leur disposition. Toutefois, il paraît ne pas être enclin de séparer les espèces bactériennes ne se distinguant les unes des autres que par la présence ou l'absence de cils.

Il nous semble plus rationnel de subdiviser notre exposé en deux parties seulement: 1° Perte des cils et de la mobilité; 2° acquisition des cils et de la mobilité. Il est, en effet, difficile, sinon impossible dans certains cas de dire si la perte des cils est vraiment définitive ou si elle n'est que temporaire. Boecker (1936), dans un travail sur les bactéries du groupe typhique-paratyphique-*enteritidis*, écrit qu'on peut parfois observer une perte de cils due soit à des causes inconnues soit provoquée expérimentalement. Cette perte de cils serait tantôt temporaire, tantôt « pratiquement définitive » (« praktisch dauernd »). On se trouverait alors en présence des formes O. Or, il y a, à notre avis, quand même une différence entre une perte définitive des cils et une perte « pratiquement définitive ». Nous reviendrons sur ce sujet un peu plus loin en exposant nos recherches personnelles. D'autre part, on sait que les formes purement O des microbes normalement mobiles sont bien rares.

Quant à l'acquisition des cils et de la mobilité par les microbes immobiles, les cas décrits jusqu'à présent sont encore très peu nombreux. D'autre part, s'il s'agit là vraiment de l'acquisition d'un nouveau caractère (ce qui nous paraît

ne pas être établi), il ne pourrait, dans ces observations, être question que d'une acquisition *définitive* des cils et de la mobilité.

a) *Perte des cils et de la mobilité par les espèces bactériennes normalement mobiles.*

Villinger (1894) paraît être le premier à avoir observé la perte de la mobilité. Ses expériences ont été effectuées avec le *B. coli commune*. En cultivant ce microbe à 42° en bouillon phéniqué (à raison de 3 gouttes d'une solution d'acide phénique à 5 p. 100 par 10 c.c. de bouillon) ou bien par l'action de la chaleur seule (par exemple, 15 minutes à 60°, etc.), il a obtenu des variantes qui étaient à la fois immobiles et non indologènes. Quelques-unes de ces variantes n'auraient plus repris leurs caractères habituels même lorsqu'elles étaient replacées dans des conditions normales de culture. Signalons toutefois que, d'après Burckhardt, il s'agirait là d'une perte temporaire de la mobilité.

Depuis cette époque, on a fait de très nombreuses observations et expériences sur ce sujet. Nous ne donnerons ici qu'un aperçu un peu sommaire.

Disons tout d'abord que la perte des cils et de la mobilité s'observe souvent dans des vieilles souches de collection, c'est-à-dire dans des souches entretenues pendant un temps plus ou moins long sur des milieux artificiels. Nous reviendrons sur ce sujet en parlant de nos observations personnelles.

Signalons aussi qu'on observe parfois une immobilité complète lors de l'isolement d'un microbe qui, après plusieurs repiquages, devient mobile et cilié. D'après Nissle (1929) ce serait une des causes pour lesquelles bien des auteurs prétendent que le *B. coli* est le plus souvent immobile (une autre cause étant le fait que, lorsqu'il s'agit de vieilles cultures, on ne peut souvent observer la mobilité qu'après plusieurs repiquages). Burckhardt a étudié 42 souches du *B. coli* (dont 36 souches typiques) en cultures à 22° et à 36°. Les intervalles entre les repiquages étaient de 24 heures, parfois de 12 heures. Il a fait les constatations suivantes: 18 souches sont restées immobiles jusqu'à la fin des expériences (35 à 45 repiquages).

18 souches étaient mobiles dès le début, mais souvent la mobilité devenait plus intense après plusieurs repiquages. 4 souches étaient devenues mobiles après 2 à 3 repiquages, 2 souches après 7-10 repiquages.

Burckhardt a étudié aussi l'action de l'alcalinité et de l'acidité fortes (jusqu'à 4 c.c. d'une solution normale de NaOH ou de H²SO⁴ pour 100 c.c. de bouillon) sur quelques espèces bactériennes (*B. typhi*, *B. paratyphi B*, *B. coli*). Il a observé une diminution de la mobilité, parfois une perte de la mobilité pour 6, une fois même pour 12 semaines. Mais l'immobilité était toujours temporaire. Cette série d'expériences nous paraît d'ailleurs être la moins intéressante parmi les expériences nombreuses de Burckhardt, car il n'a pas fait ici de colorations : il se peut que l'immobilité temporaire ait été due non pas à la perte des cils, mais à l'arrêt des mouvements ciliaires (« Geisselstarre »).

Pour donner un exemple de recherches de ce genre sur les microbes anaérobies, nous mentionnerons les expériences de Grassberger (1905) qui, par des repiquages successifs avant le début de la sporulation, a obtenu des variantes asporogènes et en même temps immobiles et non ciliées du bacille du charbon symptomatique. Ces variantes garderaient parfois pendant longtemps les caractères nouveaux. Toutefois, nous ne voyons, dans cette publication, aucune preuve d'une perte définitive des caractères habituels. Il est d'ailleurs très regrettable que l'auteur ne donne pas d'indications précises sur la composition de ses milieux, les conditions de culture, etc.

Braun et Schäffer (1919) ont fait de nombreuses expériences sur le *B. proteus* (X₁₀, X₂) en le cultivant sur de la gélose additionnée de différentes substances : acide phénique, acide acétique, sublimé, HCl, NaOH et des matières colorantes telles que le bleu Capri, bleu de thionine, trypaflavine, etc. Ils ont trouvé que, parmi ces substances, l'acide phénique exerce une action tout à fait spéciale sur ce microbe. En effet, cultivé sur gélose phéniquée à 1 p. 1000, il n'envahit pas la surface du milieu, mais donne des colonies isolées. Ces souches phéniquées se comportent, du point de vue sérologique, comme les formes O de Weil et Félix dont nous avons déjà parlé. De plus, elles sont toujours immobiles (voir aussi Braun et Salomon, 1919). Après plusieurs passages sur gélose phéniquée il

y a une perte complète des cils. Les auteurs ne considèrent cependant cette perte de mobilité et de cils comme définitive. Cultivées à nouveau dans des conditions normales, ces « souches O artificielles » se transforment plus ou moins rapidement en souches H. Signalons en passant que d'après Schiff et Nathorff (1920) l'addition d'acide phénique n'empêche pas d'une façon sûre la production de l'antigène H. Ajoutons, enfin, que Neumann (1926) a examiné, sur fond noir, le matériel prélevé de colonies isolées du *B. proteus* cultivé sur gélose phéniquée. Il a constaté dans ces colonies, n'envahissant pas la surface du milieu, des bâtonnets activement mobiles et munis de cils péritriches. Il a pu démontrer la présence de cils, dans ces conditions, également par la coloration (procédé de Zettnow). Ce résultat est d'autant plus surprenant que Braun et Schäffer se sont, eux aussi, servi du procédé de Zettnow et qu'ils ont fait un grand nombre de préparations.

Krämer et Koch (1930) ont cultivé le *B. proteus* sur gélose additionnée de 1 p. 1000 de hydrate de chloral. Ils ont obtenu des colonies isolées de ce microbe, mais, après l'ensemencement sur milieu normal, il y a de nouveau envahissement de toute la surface de la gélose. Les mêmes auteurs ont ensuite (1931) fait des expériences analogues avec d'autres substances, telles que bile, sulfate de cuivre, chlorure de sodium, acide phénique, etc. ainsi qu'en cultivant les microbes à 42°. Ces recherches ont été entreprises, comme d'ailleurs également celles de Schuback (1926) et de Kleinsorgen et Juszatz (1927), dans le but pratique de trouver un procédé permettant l'isolement des autres microbes en présence du *B. proteus*. La question de mobilité et des cils n'y est pas traité ou bien nous y trouvons comme indication que les cils restent intacts (Schuback). Nous n'avons donc pas à nous arrêter sur ces travaux.

Sertic et Boulgakov (1936) signalent une observation fort intéressante. Ils ont trouvé une race de bactériophage qui est spécifique pour des espèces bactériennes ciliées du groupe *Salmonella* (nous employons ici ce nom dans le sens adopté par le *Salmonella Subcommittee*, Journal of Hygiene, 1934, 34, 333; voir aussi les travaux déjà cités de Kauffmann et de Hornus). Sous l'influence de ce bactériophage les bactéries sensibles (entre autres la souche du bacille typhique H 901

de Félix) ont donné des variantes non ciliées. Les auteurs appellent ces variantes des « mutations ». Il est bien probable que ce soient vraiment des mutations. Toutefois, il nous semble qu'une telle affirmation exige une observation *très* prolongée des variantes en question. Nous ne voudrions pas nous prononcer, pour le moment, d'une façon catégorique sur la question de savoir si nous nous trouvons ici en présence d'une perte définitive ou bien d'une perte temporaire des cils.

Lehmann et Neumann (1896) ainsi que Lehmann (1899) signalent que le *Micrococcus agilis* Ali-Cohen (1889), le *Micrococcus citreus agilis* Menge (1892) et la *Sarcina mobilis* Maurice (1892) auraient perdu leur mobilité. Ces microbes ont ensuite été examinés bien des fois au cours de longues années et ils se sont toujours montrés immobiles. Il paraît s'agir ici d'une perte *définitive* de cils. Toutefois, il pourrait s'agir aussi bien de ce que Boecker appelle perte pratiquement définitive. En effet, nous allons démontrer tout à l'heure qu'une souche ayant perdu sa mobilité peut, dans certains cas, recouvrer ce caractère même après des années.

Recherches personnelles

Nos recherches personnelles sur ce sujet comportent aussi bien l'observation que l'expérimentation.

Observations. — Nous avons déjà exposé plus haut les observations que nous avons faites en étudiant un grand nombre de souches et d'espèces bactériennes. Nous revenons maintenant sur ces observations pour en puiser des données touchant la question dont nous nous occupons en ce moment. Ce sont surtout les microbes anaérobies qui nous ont fourni des résultats intéressants.

Le V. septique, le *B. sporogenes* et son groupe (*B. parasporogenes*, *Cl. flabelliferum*), le *B. sphenoides*, le *B. cochlearius*, le *B. difficilis* (2 souches), le *B. oedematiens* (8 souches), le *B. lentoputrescens*, le *B. sordellii*, le *B. haemoliticus bovis*, le *B. bifermentans* (11 souches dont 2 fraîchement isolées) se sont tous montrés mobiles et ciliés. Nous tenons à rappeler ici que, tandis que certains microbes (par exemple le V. septique, le groupe du *B. sporogenes*, toutes les souches

examinées du *B. bifementans* en culture très jeunes, etc.) étaient très vivement mobiles, d'autres espèces présentaient une mobilité active parfois très faible et même difficile à constater. Nous avons déjà signalé plus haut les différences que l'on rencontre non seulement entre les différentes espèces bactériennes, mais aussi entre les différentes souches d'une même espèce (voir par exemple nos indications concernant les différentes souches du *B. oedematiens*).

Pour d'autres microbes nous avons fait des constatations différentes suivant les souches : une partie des souches deviennent immobiles et non ciliées, alors que les autres souches de la même espèce présentent, repiquées sur des milieux frais, des cils et une mobilité très nette après de longues années. Nous ne citons ici que le *B. histolyticus* qui nous intéresse tout particulièrement. On sait que ce microbe perd très rapidement ses cils et sa mobilité en cultures âgées et même en cultures jeunes après plusieurs repiquages (Weinberg et Séguin, 1918, Weinberg, Nativelle et Prévot, 1937). Nous avons pu confirmer ce fait en faisant toutefois la constatation que ce n'est pas une règle sans exceptions. En effet, la souche « Let. » s'est montrée ciliée et vivement mobile bien qu'elle ait subi, au cours de longues années, une quantité innombrable de repiquages. Nous nous contentons ici de cet exemple, en renvoyant, pour nos autres constatations, aux données enregistrées plus haut.

Recherches personnelles expérimentales

Nous nous sommes demandé si on ne peut pas, soit en modifiant les conditions de culture, soit par passage sur l'animal, rendre à nouveau mobiles et ciliées les souches ayant perdu ce caractère. En d'autres termes, nous avons voulu résoudre expérimentalement la question suivante : peut-on considérer le fait qu'une souche d'une espèce bactérienne normalement mobile se montre, pendant un temps très long, absolument immobile et non ciliée, comme une preuve d'une perte *définitive* des cils et de la mobilité.

Comme matériel pour nos expériences, nous avons choisi les souches suivantes :

Anaérobies:

B. histolyticus souche Baudet.

B. histolyticus souche Delombe.

B. chauvoei souche Turc.

B. chauvoei souche Vallée.

Avant le début de nos expériences, nous avons examiné ces quatre souches à maintes reprises pendant 2 ans et demi environ. Elles se sont toujours montrées absolument immobiles et non ciliées.

Aérobies:

B. typhi souche O 901 de Félix.

B. d'Aertrycke souche O.

B. d'Aertrycke souche R.

La souche Ty. O 901 de Félix est universellement connue, il est donc inutile d'insister sur le fait qu'elle est immobile et dépourvue de cils. Les souches O et R du bacille d'Aertrycke dont nous avons déjà eu l'occasion d'indiquer l'origine sont également des vieilles souches de laboratoire absolument immobiles et non ciliées.

Expériences in vitro. (Comme nous l'avons déjà dit dans un autre chapitre, la réaction de nos milieux correspond, sauf indication contraire, au p H = 7,6 — 7,8).

Cultures de 15 heures à 37° en bouillon Vf glucosé à 2 p. 1.000 : toutes les souches sont immobiles et non ciliées.

Cultures de 15 heures à 37° en bouillon Vf non sucré : mêmes résultats.

Culture de 18 heures à 30° en bouillon Vf glucose à 2 p. 1.000 : mêmes résultats.

Cultures de 20 heures à 37° en bouillon Vf non sucré (pH = 7 — 7,2) : mêmes résultats.

Pour les 3 souches aérobies nous avons fait parallèlement, dans les mêmes conditions (âge, température, pH, etc.), des cultures sur gélose inclinée. Le matériel pour l'examen en goutte pendante et pour les colorations a été prélevé, d'une part, sur des colonies à la surface de la gélose, et, d'autre part, dans l'eau de condensation. Les résultats étaient toujours négatifs.

Pour les expériences suivantes, nous ne nous sommes servis que de milieux liquides.

Cultures de 18 heures à 30° en bouillon Vf glucosé à 2 p. 1.000 additionné de sérum inactivé de cheval (en raison de 1 c.c. par tube) : mêmes résultats.

Cultures de 15 heures à 37° en bouillon Vf glucosé à 2 p. 1.000 additionné de sérum inactivé de cheval (1 c.c. par tube) : mêmes résultats.

Cultures de 15 heures à 37° en bouillon Vf glucosé à 2 p. 1.000 additionné d' « ascite-sérum » (1 c.c. par tube) : mêmes résultats.

Cultures de 48 heures à la température du laboratoire, en bouillon Vf glucosé à 2 p. 1.000 additionné de sérum inactivé de cheval (1 c.c. par tube). Résultats:

B. histolyticus, souche *Baudet* : mobilité active nette.

B. chauvoei souche *Vallée*: n'a pas poussé dans ces conditions.

Les autres souches sont restées immobiles.

Cultures de 48 heures à la température du laboratoire en bouillon Vf glucosé à 2 p. 1.000 additionné d' « ascite-sérum » (1 c.c. par tube).

Résultats:

B. histolyticus souche *Baudet* : très vivement mobile.

B. histolyticus souche *Delombe* : quelques rares éléments paraissent être faiblement mobiles.

B. chauvoei souche *Vallée* : n'a pas poussé dans ces conditions.

Les autres souches sont restées immobiles.

(L' « ascite-sérum » employé par nous n'est autre chose que le sérum formolé d'après R. Legroux: 600 c.c. de sérum de cheval ou de bœuf sont additionnés de 1 c.c. de formol du commerce ; on mélange, on étend de 2 parties d'eau distillée, on stérilise pendant 15 minutes à 110°. Voir Calmette, Boquet et Nègre, Manuel technique de microbiologie et sérologie, 3^{me} édition, 1933).

Expériences in vivo:

Pour les anaréobies, nous avons fait des inoculations in-

tramusculaires (cuisse) aux cobayes.

Les deux souches du *B. chauvoei* avaient perdu tout pouvoir pathogène (nous n'avons toutefois pas dépassé la dose de 1 c.c.). Nous avons donc abandonné ces souches.

Par contre, les deux souches du *B. histolyticus* ont manifesté un pouvoir pathogène très grand. Injectées à la dose de 1 c.c. dans la cuisse du cobaye, elles provoquaient la mort de l'animal en moins de 24 heures sans aucune lésion apparente. Ce n'est qu'en injectant des doses beaucoup plus faibles (0 c.c., 1 et 0 c.c., 05 de culture de 24 heures en bouillon glucosé) que nous avons obtenu des oedèmes très caractéristiques. Les animaux ont été sacrifiés après 24 heures. A l'examen direct des sérosités prélevées stérilement, nous n'avons pu constater la présence d'un seul bacille, tant qu'il s'agissait des animaux ayant reçu 0 c.c, 1 de culture. Par contre, dans les sérosités prélevées des deux cobayes n'ayant reçu que 0 c.c, 05 de culture, nous avons pu constater la présence d'un grand nombre de bâtonnets. Cependant, ici aussi, les résultats étaient différents pour les deux souches du *B. histolyticus*. En effet, la souche *Baudet* a recouvré sa mobilité qui se manifestait maintenant d'une façon très vive, alors que la souche *Delombe* est restée absolument immobile.

Pour les *aérobies*, nous avons effectué des injections intrapéritonéales à la dose de 0,5 c.c de culture de 24 heures en bouillon glucosé. Les cobayes ont été sacrifiés après 48 heures. Le résultat était le même pour les 3 souches utilisées (*B. typhi* 0 901, bacille d'Aertrycke souches 0 et R) : elles sont toutes restées immobiles.

Discussion des résultats. — Nos expériences montrent d'une façon très nette que la perte de la mobilité et des cils paraissant être *pratiquement* définitive *ne doit pas* être nécessairement définitive. En effet, nous avons réussi à rendre mobile, aussi bien *in vitro* qu'*in vivo*, une souche du *B. histolyticus*, qui, observée auparavant par nous durant 2 ans et demi, s'était toujours montrée immobile. La deuxième souche (*Delombe*) du même bacille n'a donné qu'un résultat douteux *in vitro* et aucun résultat *in vivo*. Quant aux autres souches avec lesquelles nous avons expérimenté, nous n'avons réussi à leur faire recouvrer leur mobilité. Nous en déduisons

que ces souches ont subi des modifications beaucoup plus profondes. Nous nous rendons cependant compte que, dans nos expériences, nous n'avons pas épuisé toutes les possibilités de changement des conditions. D'autre part, nous n'avons pas effectué des *passages en série* sur des animaux. Les résultats de nos expériences ne peuvent donc être, à notre avis, interprétés comme une preuve absolue de la perte vraiment définitive de la mobilité par ces souches. Nous préférons considérer cette perte de mobilité comme étant « pratiquement définitive ».

b) *Acquisition des cils et de la mobilité par des espèces bactériennes normalement immobiles.*

Le *B. implexus*, se rapprochant beaucoup du *B. subtilis*, a été décrit par Zimmermann comme étant absolument immobile. Lehmann et Neumann l'ont d'abord considéré comme immobile. Boettcher (1897), qui en a fait le sujet de sa thèse, l'a trouvé *temporairement* mobile, sauf sur pomme de terre. Zierler (1899) a examiné la même souche 1 an et demi plus tard et l'a trouvé mobile sur tous les milieux. Lehmann (1899) confirme les observations de Boettcher et de Zierler. Depuis, Lehmann et Neumann insistent dans toutes les éditions de leur manuel (la dernière que nous avons pu consulter est celle de 1927) sur l'importance théorique de cette observation qu'ils considèrent comme une transformation d'un microbe immobile en microbe mobile. Burckhardt (1914) suppose qu'il s'agit d'un microbe qui était d'abord mobile puis immobile pendant longtemps et ensuite à nouveau mobile. Frache (1926) a formulé une autre hypothèse. En effet, nous lisons chez cet auteur : « Vraisemblablement, les auteurs qui ont considéré *B. implexus* comme une variété immobile de *B. subtilis* ont opéré sur du matériel impur ». Cette supposition nous paraît ne rien expliquer. En effet, si on admet qu'il ne s'agissait que d'une culture impure du *B. subtilis*, on ne voit pas bien pourquoi ce microbe, mobile en culture pure, ne manifesterait pas sa mobilité en présence d'autres microbes.

La supposition de Burckhardt nous semble être beaucoup plus concluante. Mais ce fait peut s'expliquer encore d'une autre manière. Nous avons insisté sur les difficultés qu'on a

parfois à mettre en évidence la mobilité d'une espèce microbienne. Nous ne rappelons ici que le cas du *B. bif fermentans*. Nous croyons que personne n'aura l'idée d'affirmer que ce microbe était d'abord immobile lors de son étude par Tissier et Martelly, par Hall et par tant d'autres bactériologistes et qu'il est ensuite devenu mobile chez Sturges et Drake, chez Zeissler, chez nous et, enfin, chez Clark et Hall. Quoiqu'il en soit, il nous semble que les observations faites sur le *B. implexus* ne peuvent pas être considérées comme une preuve absolue d'une transformation d'un microbe immobile en microbe mobile.

Yvonne Cado (1936), Lévy-Bruhl et Cado (1936), Lévy-Bruhl, Cado et Huri (1937) ont fait des recherches fort intéressantes sur les bacilles muqueux (pneumobacille de Friedländer et bacilles voisins). En étudiant 40 souches de ces microbes, il ont constaté chez 8 souches une mobilité nette, bien que de courte durée. En outre, ces souches présentent encore d'autres caractères aberrants, dont un nous intéresse tout particulièrement : pouvoir gélatinolytique tardif, mais net. Pour les auteurs, il s'agit ici de mutations. Etant donné que Jordan a décrit, en 1890, sous le nom de *B. cloacae* un microbe à la fois muqueux, mobile et gélatinolytique, ils supposent que les variantes gélatinolytiques évoluent vers ce microbe. Nous avons examiné ces souches du point de vue de la mobilité, et nous avons nous-même effectué les colorations des cils pour ces auteurs. Nous pouvons confirmer qu'il s'agit, en effet, de souches très vivement mobiles et munies de cils péritriches. Quant à la question de savoir si l'on se trouve ici en présence d'acquisition de cils par mutation, nous sommes moins affirmatif. Disons tout d'abord que les microbes classiquement décrits comme immobiles ne sont souvent pas examinés du point de vue de la mobilité. (Koblmüller mentionne ce fait dans son travail sur les streptocoques mobiles. Signalons, en passant, que deux des souches mobiles décrites par nous ont été auparavant étudiées par deux excellents bactériologistes qui, cependant, ne se doutaient pas de leur mobilité). La gélatinolyse *tardive* est aussi un caractère qui peut échapper à l'observation. D'autre part, on trouve dans la littérature la description des bacilles muqueux mobiles. Nous avons déjà mentionné le *B. cloacae* de Jordan. Lévy-Bruhl,

Cado et Huri citent eux-mêmes les observations de Wilson (1935) d'après lesquelles un certain nombre de bacilles muqueux sont, pendant une phase assez courte, mobiles et ciliés. Tout ceci nous fait penser que dans les cas décrits par ces auteurs il peut s'agir ou bien du *B. cloacae* (souches gélatinolytiques), ou bien de formes atypiques. Ceci démontrerait l'hétérogénéité du groupe des bacilles muqueux, mais nous n'y voyons pas de preuve de l'acquisition des cils et de la mobilité par mutation.

Aïtoff, Dion et Dobkevitch (1937) ont fait des constatations d'un intérêt tout à fait exceptionnel que nous ne pouvons résumer ici que très brièvement. En travaillant avec une souche de bacille dysentérique isolée des selles de nouveau-nés, elles ont fait des passages sur animaux (souris, rats, cobayes et lapins). Après une trentaine de passages, elles ont constaté la transformation de certains caractères de ce microbe. Les cultures, surtout en milieux liquides, avaient acquis une odeur fécaloïde très intense. De plus, il y avait quelques éléments mobiles. Par contre, les réactions de fermentation étaient restées les mêmes (type Flexner). En continuant les passages sur animaux les auteurs ont obtenus une deuxième mutation qui se distingue de la première par le fait de la disparition du pouvoir de fermentation du mannitol et du maltose (type Shiga). Ici aussi, les auteurs ont constaté une mobilité partielle et une odeur fécaloïde. Grâce à l'obligeance de Mme Marguerite Aïtoff nous avons eu l'occasion d'examiner ses souches du point de vue de la mobilité et de la présence de cils. Nous avons employé des cultures âgées de 3 heures, en eau peptonnée, en bouillon Vf et en eau de condensation de gélose inclinée. (Température de l'incubation: 37°). La souche primitive (« bacille dysentérique des nouveau-nés ») s'est montrée absolument immobile, tandis que les deux autres souches (« souche transformée à réactions Flexner » et « souche de mutation à réactions Shiga ») sont *très* vivement mobiles dans les mêmes conditions. Les colorations que nous avons ensuite pratiquées ont confirmé nos observations en gouttes pendantes. En effet, nous ne sommes parvenus à mettre en évidence pas un seul cil chez la souche primitive, alors que les deux autres souches se sont montrées ciliées. Les cils sont peu nombreux, très fins et présentent des ondes caractéristiques.

S'agit-il ici vraiment de mutations ? Les auteurs n'ont obtenu ces variantes qu'en faisant des passages sur animaux, jamais *in vitro*. On pourrait donc faire l'objection qu'elles ont isolé du sang de cœur non pas des variantes (mutations) du même microbe, mais un autre microbe. D'autre part, elles n'ont pas employé le procédé d'isolement à partir de cellules uniques qui serait ici tout particulièrement indiqué. Cependant, les recherches sérologiques effectuées par Aïtoff et Dion (1937) nous semblent confirmer qu'il n'y a aucune confusion. Nous croyons donc (sous les réserves que nous venons de faire) qu'il s'agit ici, en effet, d'acquisition des cils et de la mobilité par mutation. Nous considérons les recherches de Aïtoff, Dion et Dobkevitch comme les plus intéressantes et les plus importantes parmi tous les travaux sur la question de l'acquisition des cils. L'intérêt en est d'autant plus grand que l'on peut étudier ici comparativement la souche originelle et les deux mutations.

Conclusions générales

1. — La mise en évidence de la mobilité des bactéries, très facile dans bien des cas, présente parfois de grandes difficultés, soit parce que la mobilité est très faible, soit parce que le vieillissement des cultures et la perte des cils se produisent très rapidement à la température de l'étuve, soit parce que les cils ne se développent que dans des conditions spéciales. Dans ces cas, il est indispensable d'examiner la culture bactérienne dans les conditions les plus variées. Nous obtenons toujours les meilleurs résultats en examinant des cultures très jeunes. L'âge d'une culture doit être exprimé non seulement par la durée, mais aussi par la température de l'incubation. La composition du milieu, son pH et d'autres facteurs jouent également un rôle important. D'après nos observations, le milieu de choix pour la mise en évidence de la mobilité est l'eau de condensation de la gélose inclinée (cultures très jeunes obtenues, le cas échéant, à la température du laboratoire).

2. — La coloration des cils, toujours utile, est absolument indispensable lorsque l'examen de la culture *in vivo* a donné un résultat douteux ou même négatif. Parmi les méthodes de coloration préconisées jusqu'à présent, nous considérons celle de Casares-Gil comme la plus simple, la plus pratique et la plus facile. Cependant, dans des cas très délicats elle ne nous a pas satisfait. C'est pourquoi nous avons cherché à perfectionner ce procédé. Nous avons réussi à élaborer une modification qui, tout en restant simple, est beaucoup plus sûre que le procédé original de Casares-Gil et donne une coloration plus intense des cils. Nous avons exposé dans cet ouvrage tous les détails de la technique mise au point par nous. pour les aérobies aussi bien que pour les anaérobies.

3. — Après avoir aplani les difficultés d'ordre technique, nous avons entrepris des recherches biologiques portant, d'une part, sur des questions spéciales et, d'autre part, sur des questions générales concernant la mobilité et la présence ou l'absence de cils. Nous avons tout d'abord contribué à démontrer que le *B. bifermentans* est, contrairement aux affirmations de la plupart des bactériologistes, une espèce mobile et ciliée.

4. — Nous avons ensuite fait porter nos recherches sur l'entérocoque en contribuant ainsi à l'étude de la question de la mobilité chez les Streptococcées. Sur 44 souches d'entérocoques étudiées par nous, 3 se sont montrées mobiles et ciliées, tout en présentant tous les caractères morphologiques (sauf les cils), cultureux et biochimiques des entérocoques. Nous avons en outre démontré (et nous sommes le premier à avoir fait cette constatation), que les entérocoques mobiles peuvent appartenir à des types sérologiques différents. En effet, les 3 souches d'entérocoques mobiles décrites par nous appartiennent à deux types sérologiques différents. D'autre part, une de ces souches mobiles appartient au même type sérologique qu'une des souches immobiles.

5. — En passant à l'étude biologique des problèmes d'ordre général, nous nous sommes tout d'abord posé la question de savoir si les bactéries immobiles peuvent être ciliées. On sait que Alfred Fischer a nié une telle possibilité dès 1895. Cependant, nous avons trouvé chez quelques auteurs la description de souches ciliées, mais immobiles. Nous avons examiné un matériel très abondant, et nos observations nous imposent le plus grand scepticisme vis-à-vis des affirmations de ces auteurs.

6. — Enfin, notre intérêt fut attiré par le problème de la perte et de l'acquisition des cils et de la mobilité. Nous avons démontré qu'il est souvent très difficile de se prononcer sur la question de savoir si la perte de la mobilité en milieux artificiels est vraiment définitive ou seulement temporaire. Cependant, nous avons réussi, dans un cas, à faire recouvrer la mobilité, aussi bien *in vivo* qu'*in vitro*, par une souche du *B. histolyticus*, que nous avons observée auparavant pendant 2 ans et demi et qui était, lors de nos observations, toujours immobile et dépourvue de cils.

Quant à l'acquisition de la mobilité et des cils par une espèce immobile, ce ne sont que les constatations de Aïtoff, Dion et Dobkevitch qui (sous certaines réserves) nous paraissent fournir un exemple de mutation de ce genre.

7. — Nous croyons avoir démontré que la mobilité et les cils sont loin d'être un caractère différentiel d'une valeur et d'une constance *absolues*. Ils sont devenus ce qu'ils doivent être : un caractère différentiel parmi tant d'autres.

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE

- AITOFF (Marguerite), DION (Madeleine) et DOBKEVITCH (Hélène). Transformations biologiques d'un bacille dysentérique par passage sur les animaux. *C. R. Soc. Biol.* 1937, 125, 928.
- AITOFF (Marguerite) et DION (Madeleine). Réactions d'agglutination de deux souches dysentériques de mutation. *C. R. Soc. Biol.*, 1937, 125, 932.
- ALI-COHEN (Ch.-H.), Eigenbewegung bei Mikrokokken, *Zentr. f. Bakt.*, 1889, 6, 33.
- ARENA (A.R.) et SCHWARTZ (R.), Coloración de ciliias por el método de Casares-Gil. Diferencias morfológicas entre variantes R y S de Cepas de las bacterias de Eberth. *Revista de la Sociedad Argentina de Biología.* 1936, 12, 481 ;
- Coloration des cils par la méthode de Casares-Gil. Différences morphologiques entre les variantes R et S de souches du bacille d'Eberth. *C. R. Soc. Biol.* 1937, 124, 500.
- ARKWRIGHT (I. A.), The importance of motility of bacteria in classification and diagnosis, with special reference to *B. pseudotuberculosis rodentium*. *The Lancet*, 1937, 13.
- ARLOING (S.), Sur l'obtention de cultures et d'émulsions homogènes du bacille de la tuberculose humaine en milieu liquide et « sur une variété mobile de ce bacille ». *C. R. Ac. Sciences*, 1898, 126, 1319.
- ARLOING (S.) et COURMONT (P.). De l'obtention des cultures du bacille de Koch les plus propices à l'étude du phénomène de l'agglutination par le sérum sanguin des tuberculeux. *C. R. Ac. Sciences*, 1898, 127, 312.
- DE BARY. Vorlesungen über Bakterien und Pilze. 1884-1887.
- BENECKE (W.). Bau und Leben der Bakterien. Leipzig, 1912.
- BERGEY (D. H.). Manuel of Determinative Bacteriology. 4^e édition. Baltimore, 1934.
- BERNHARDT (G.). Beiträge sur Morphologie und Biologie der Ruhrbakterien. *Zeitschr. F. Hyg. u. Infekt.* 1912, 71, 229.
- BEYER (H. C.) et REAGH (A. L.). The further differentiation of flagellar and somatic agglutinins. *Journ. of Med. Research*, 1904, 12, 313.
- BILLROTH (Th.). Untersuchungen über die Vegetationsformen der *Coccobacteria septica*, etc. Berlin, 1874.
- BIRT (C.) et ECKERSLEY (E.), The flagella of dysentery bacilli. *Journ. of the Royal Army Med. Corps*, 1905, 4, 138.
- BOECKER (E.). Die praktische Diagnostik der Bazillen der Typhus-Paratyphus-Enteritis-Gruppe. *Zentr. f. Bakt., Orig.*, 1936, 137, 321.
- BOECKER (E.) et KAUFFMANN (F.), Bakteriologische Diagnostik. J. Springer, ed., Berlin, 1931.

- BOETTCHER. Studien über *Bacillus implexus* und *mycoides*, mit besonderer Berücksichtigung ihrer Beweglichkeit. Thèse. Wurzburg, 1897.
- BOQUET (Paul). Sur la mobilité du coccobacille de la pseudotuberculose des rongeurs cultivé à 18°-20°. *C. R. Soc. Biol.*, 1936, 121, 931.
Recherches expérimentales sur la pseudotuberculose des rongeurs. *Ann. Inst. Pasteur*, 1937, 59, 341.
- BRAUN (H.) et SALOMON (R.). Die Fleckfieber-*Proteus*-Bazillen (Weil und Felix). Ihr Verhältnis zueinander und zu Nicht-Fleckfieber-*Proteus*-Stämmen. *Zentr. f. Bakt., Orig.*, 1919, 82, 243.
- BRAUN (H.) et SCHAFFER (H.). Zur Biologie der Fleckfieber-*Proteus*-Bazillen. *Berl. Klin. Woch.*, 1919, 409.
Zur Biologie der Fleckfieberproteusbazillen. Ein Beitrag zur Frage der Wirkungsweise der Desinfektionsmittel und des Hungers auf Bakterien. *Zeitschr. f. Hyg.*, 1919, 89, 339.
- BORNAND (M.). La coloration des cils des bactéries par la méthode de Casares-Gil. *Schweiz. Med. Woch.*, 1937, fasc. 2, 36.
- BUONOMINI (G.). La migrazione per candel porosa comma indicante molto mobili e purificazione di forme S nel « *B. Coli* ». *Lo Sperimentale*, 1934, 608.
- BURKHARDT (I. L.). Untersuchungen über Bewegung und Begeisselung der Bakterien und die Verwendbarkeit dieser Merkmale für die Systematik. I. Teil. Über die Veränderlichkeit von Bewegung und Begeisselung. *Arch. f. Hyg.*, 1914, 82, 235.
- CADO (Yvonne), Recherches microbiologiques et biochimiques sur des bactéries muqueuses (Pneumobacille de Friedländer et bacilles voisins). Thèse de Pharmacie. Paris, 1936.
- CALMETTE (A.), BOQUET (A.) et NEGRE (L.). Manuel technique de microbiologie et sérologie. Masson éd., Paris, 3^e édition, 1933.
- CLARK (F. E.) et HALL (J. C.). A comparative study of *Bacillus bifementans* (Tissier et Martelly), *Bacillus centrosporogenes* (Hall), and certain closely related proteolytic anaerobes. *Journ. of Bact.*, 1937, 33, 23.
- COHN (F.). Untersuchungen über Bakterien. *Beiträge zur Biologie der Pflanzen*, 1872, I, fascicule 2.
- COLQUHOUN (D. B.) et KIRKPATRIK (J.). The isolation of motile organisms from apparently non-motile cultures of *B. typhosus*, *B. proteus*, *B. pestis*, *B. melitensis*, etc. *Journ. of Pathol. a. Bact.* 1932, 35, 367.
- DALLINGER (W. H.) et DRYSDALE (J. J.). On the existence of flagella in *Bacterium termo*. *The Mounthly Microscop. Journal*, 1875.
- DAVID (H.). Über ein einfaches und sicheres Verfahren zur Geisseldarstellung. *Zentr. f. Bakt., Orig.* 1934, 132, 240.
- DIBLE (J. H.). The *Enterococcus* and the faecal streptococci : their properties and relations. *Journ. of Pathol. a. Bacteriol.* 1921, 24, 3.
- DIMITRIJEVIC-SPETH. Die Kulturelle Unterscheidung unbeweglicher anaëroben Bazillen. *Zentr. f. Bakt., Orig.* 1937, 140, 105.

- DRAKE (E. T.) et STURGES (W. S.), Strain variations in *C. bifermens*. *Journ. of Bact.*, 1929, 17, 387.
- DUJARRIC DE LA RIVIERE (R.) et KOSSOVITCH (N.), Antigènes, Hétéro-Antigènes, et Haptènes. Baillière et fils, éd., Paris, 1937.
- DUPOND (M. R.). Recherches sur la mobilité et les organes moteurs des bactéries. Thèse de médecine, Nancy, 1905.
- ELLIS (D.). Der Nachweis der Geisseln bei allen Coccaceen. *Zentr. f. Bakt.* II Abt., 1902, 9, 546.
- Untersuchungen über *Sarcina*, *Streptococcus* und *Spirillum*. *Zentr. f. Bakt., Orig.*, 1903, t. 33, p. 1, 81, 161.
- On the discovery of cilia in the genus *Bacterium*. *Zentr. f. Bakt.*, II Abt., 1904, 11, 241.
- FELIX (A.). Ueber Varianten der *Proteus* X-Stämme. *Zeitschr. f. Immun.*, 1922, 35, 57.
- The qualitative receptor analysis in its application to typhoid fever. *The Journ. of Immunology*, 1924, 9, 115.
- The qualitative serum diagnosis of enteric fevers. *The Lancet*, 1930, 218, 505.
- FELIX (A.) et MITZENMACHER (Fanny), Weitere Untersuchungen über den Nachweis der O- und H-Rezeptoren bei den Proteusstämmen. *Wien. Klin. Woch.*, 1918, 988.
- FELIX (A.) et ROBERTSON (M.). Serolog. studies of the spore-bearing anaerobes. I. The qualitative analysis of the bacterial antigens of *B. œdematis maligni* (V. septique) and *B. tetani*. *British Journ. of experimental Pathology*, 1928, 9, 6.
- FERRIER. Considérations générales sur le pléomorphisme des cils vibratils de quelques bactéries mobiles. *Arch. de Méd. exp.*, 1895, 7, 58.
- FICKER (M.). Article : « Geisselfärbung », in Kolle, Kraus et Uhlenhuth, Handbuch der pathogenen Mikroorganismen, 3^e édition, 1929, 9, 768.
- FISCHER (A.), Untersuchungen über Bakterien. *Pringsheims Jahrb. f. wissenschaftl. Botanik*, 1895, 27, 1.
- Vorlesungen über Bakterien. G. Fischer éd., Iena, 1897.
- FISCHER (O.). Ein unbeweglicher Typhusstamm. *Klinisches Jahrbuch*, 1910, 22, 311.
- FLATZEK (A.). Über ein bewegliches, dem Milchsäurestreptococcus (*Streptococcus acidilactici*) nahestehendes Bakterium. *Zentr. f. Bakt., Orig.*, 1919, 82, 234.
- FRAENKEL (C.). Untersuchungen über die Serumdiagnose der Tuberkulose nach dem Verfahren von S. Arloing und P. Courmont. *Hygien. Rundschau*, 1900, 10, 630.
- FRIED (E.). Biologische Studien über die Eigenbewegung der Bakterien. Thèse de Sciences. Wurzburg, 1902.
- FRIEDBERGER (E.). Eine neue Methode (Kapillarsteigmethode) zur Trennung von Typhus und Koli nebst allgemeinen Untersuchungen über das kapillare Steigvermögen der Bakterien im Filtrierpapier. *Münch. Med. Woch.*, 1919, 1372.

FUHRMANN (F.). Die Geisseln von *Spirillum volutans*. *Zentr. f. Bakt., II. Abt.*, 1910, 25, 129.

GALLI-VALERIO (B.). Recherches expérimentales sur une sarcine pathogène. *Zentr. f. Bakt., Orig.*, 1908, 47, 177.

La méthode de Casares-Gil pour la coloration des cils des bactéries. *Zentr. f. Bakt., Orig.* 1915, 76, 233.

Parasitologische Untersuchungen und Beiträge zur parasitologischen Technik. *Zentr. f. Bakt., Orig.*, 1918, 80, 270.

GAUDUCHEAU (A.). Cils géants et corps fuso-spirillaires amibiens. *C. R. Soc. Biol.*, 1911, 70, 172.

GINS (H. A.). Über die Darstellung von Geisselzöpfen bei *Bact. typhi*, *Bact. proteus* und den Bakterien der *Salmonella*-Gruppe mit der Methode des Tuscheausstrichpräparates. *Zentr. f. Bakt., Orig.*, 1911, 57, 472.

GLOTOVA (E.V.). Anaerobi i zabolevania vizivaïemïe imi (en russe). Moscou-Leningrad, 1935.

GORDON (M. H.). Note on the flagella of *Micrococcus melitensis* and *Bacillus pestis*. *The Lancet*, 1899, 688.

GOTSCHLICH (E.). Article : « Allgemeine Morphologie und Biologie der pathogenen Mikroorganismen », in Kolle, Kraus et Uhlenhuth, *Handbuch der pathogenen Mikroorganismen*, 3^e édition, 1929, 1, 92.

GRANDI (S. de). Beobachtungen über die Geisseln des Tetanusbacillus. *Zentr. f. Bakt., Orig.*, 1903, 34, 97.

GRASSBERGER (R.). Über Anpassung und Vererbung bei Bakterien. *Arch. f. Hyg.*, 1905, 53, 158.

HALL (I. C.). Differentiation and identification of the sporulating anaerobes. *The Journal of Infect. Diseases*, 1922, 30, 445.

HENNEBERG (W.). Bakteriologische Molkereikontrolle, Berlin, 1934.

HINTERBERGER (A.). Einiges zur Morphologie des Milzbrandbazillus (Kapseln, Hüllen, eigentümliche Fäden). *Zentr. f. Bakt.*, 1901, 30, 417.

Geisseln bei einer 5 Monate alten *Proteus*-Kultur und einer 10 ½ Monate alten Kultur von *Micrococcus agilis*. *Zentr. f. Bakt., Orig.*, 1904, 36, 480.

Färbungen agglutiniertter Typhusbacillen mit Silbernitrat. *Zentr. f. Bakt., Orig.*, 1904, 36, 457.

Bemerkungen zu der Frage, ob der *Bacillus anthracis* Geisseln bildet und Hüllen hat. *Zentr. f. Bakt., Orig.*, 1908, 45, 108.

Geisseln und « Myzele » unter der Einwirkung von Wärme. *Zentr. f. Bakt., Orig.*, 1921, 86, 233.

HITCHENS (A. P.). Advantages of culture mediums containing small percentages of agar. *Journ. of Infect. Diseases*, 1921, 29, 390.

HORNUS (G.). Structure antigénique et classification des bacilles du groupe des *Salmonella*. *Revue d'Immunologie*, 1935, 488.

HUEPPE. Formen der Bakterien. Wiesbaden, 1886.

JORDAN. « *Bacillus cloacae* ». *Rep. Mass. State Board of Health*, 1890, Part. I., 836.

- JORDAN (E. O.), CALDWELL (Mary E.) et REITER (Dorothy). Bacterial motility. *Journ. of Bacteriol.*, 1934, 27, 165.
- KAUFFMANN (F.). Die *Salmonella*-Gruppe mit besonderer Berücksichtigung der Nahrungsmittelvergifter. *Ergebnisse der Hygiene*, 1934, 15, 219.
- KLEIN. Botanische Bakterienstudien. *Zentr. f. Bakt.*, 1889, 6, 313.
- KLEINSORGEN (W.) et JUSATZ (H.). Empfehlung eines 3 proz. Rindergallezusatzes zum Endo-Nährboden zwecks Verhütung einer Überwucherung der Kulturen durch *Bact. proteus* auf Grund einjähriger praktischen Bewährung. *Zentr. f. Bakt., Orig.*, 1927, 104, 440.
- KOBLMÜLLER (L. O.). Untersuchungen über Streptokokken. I. Mitteilung : Über bewegliche Streptokokken. *Zentr. f. Bakt., Orig.*, 1935, 133, 310.
- KOBLMÜLLER (L. O.) et VIERTHALER (R. W.). Über ein Gerät zum Isolieren von Keimen auf der Oberfläche fester Nährböden. (« Plattenmanipulator »). *Zentr. f. Bakt., Orig.*, 1933, 129, 438.
- KOCH (R.). Untersuchungen über Bakterien. VI. Verfahren zur Untersuchung, zum Konservieren und Photographieren der Bakterien. *Cohns Beitr. z. Biologie der Pflanzen*, 1877, 2, 399.
- KOSSEL et OVERBECK. *Arbeit. a. d. k. Gesundheitsamt.* 1902, 18, 114 (cité d'après Weitzenberg).
- KRÄMER (E.) et KOCH (F. E.). Nichtschwärmende Proteuskolonien auf Chloralhydratagar. *Klin. Woch.*, 1930, 2257.
- Hemmung der Schwärmens der Proteuskolonien durch Chloralhydrat, verglichen mit der Hemmung durch Dextrose, 42° - Züchtung, Phenol, Natriumchlorid, Wismut, Esbachs Reagens, Malachitgrün, Galle und Kupfersulfat. *Zentr. f. Bakt., Orig.*, 1931, 120, 452.
- KÜHNEMANN (G.). Zur morphologischen Differenzierung der Typhus — und der Paratyphus B — Bacillus mittels Geisselfärbung. *Zentr. f. Bakt., Orig.*, 1910, 53, 473.
- KUHN (Ph.) et STERNBERG (Käte). Weitere Befunde bei Bakterien und Pettenkoferien. *Zentr. f. Bakt., Orig.*, 1932, 124, 205.
- LASSEUR (Ph.). Contribution à l'étude de *B. chlororaphis* G. et S. Thèse de Sciences, Nancy 1911.
- LASSEUR (Ph.), VERNIER (P.), DUPAIX (A.) et ZAHL (S.). Observations sur les fouets de quelques bactéries. *Travaux du Laboratoire de Microbiologie de la Faculté de Pharmacie de Nancy*, 1930, fascicule III.
- LEHMANN (K.B.). Einige Bemerkungen zur Geisselfrage. *Arch. f. Hyg.*, 1899, 34, 198.
- LEHMANN (K. B.) et FRIED (E.). Beobachtungen über die Eigenbewegungen der Bakterien, *Arch. f. Hyg.*, 1903, 46, 311.
- LEHMANN (K. B.) et NEUMANN (R. O.). Atlas und Grundriss der Bakteriologie und Lehrbuch der speziellen bakteriologischen Diagnostik. I F. Lehman, éd., Munich, 1^{re} édition 1896 ; 5^e édition 1912; 7^e édition 1927.

LEIFSON (E.). Developement of flagella on germinating spores. *Journ. of Bact.*, 1931, 21, 357.

LEVENSON (S.). De la mobilité du *Bacillus bifementans*. *C. R. Soc. Biol.* 1936, 121, 221.

Coloration des cils bactériens par un procédé simple. *Ann. Inst. Pasteur*, 1936, 56, 634.

Entérocoques mobiles. *C. R. Soc. Biol.*, 1937, 124, 1270.

Entérocoques mobiles. *Ann. Inst. Pasteur*, 1938, 60, 99.

LEVINTHAL (W.). Eine neue Technik der Beweglichkeitsprüfung an lebenden Bakterien. *Zeitschr. f. Hyg.*, 1930, 111, 140.

LEVY-BRUHL (M.) et CADO (Yvonne). Nouveaux cas de mutation observés dans le groupe du Pneumobacille. *C. R. Soc. Biol.*, 1936, 122, 1246.

LEVY-BRUHL (M.), CADO (Yvonne) et HURI (M.). Caractères généraux et biochimiques de quarante souches de bacilles muqueux. *Ann. Inst. Pasteur*, 1937, 58, 498.

LOEFFLER (F.). Eine neue Methode zum Färben der Mikroorganismen, im besonderen ihrer Wimperhaare und Geisseln. *Zentr. f. Bakt.*, 1889, 6, 209.

Weitere Untersuchungen über Beizung und Färbung der Geisseln bei den Bakterien. *Zentr. f. Bakt.*, 1890, 7, 625.

MALVOZ (E.). Sur la présence d'agglutinines spécifiques dans les cultures microbiennes. *Ann. Inst. Pasteur*, 1889, 13, 630.

Sur les cils composés. *Ann. Inst. Pasteur*, 1902, 16, 686.

MANDELBAUM. Zur Typendifferenzierung innerhalb der Typhus - Paratyphusgruppe durch neue serologische Methoden und die Anwendung derselben zur Diagnose der durch diese Keime verursachten Krankheiten. *Société de Microbiologie de Berlin, Séance du 18 janvier 1932. Zentr. f. Bakt., Ref.*, 1932, 105, 377.

MAUREA (G.). Über eine bewegliche Sarcine. *Zentr. f. Bakt.*, 1892, 11, 228.

MATZUSCHITA (F.). Der Einfluss der Temperatur und Ernährung auf die Eigenbewegung der Bakterien. *Zentr. f. Bakt., II Abt.*, 1901, 7, 209.

MENGE (K.). Über einen *Micrococcus* mit Eigenbewegung. *Micrococcus agilis citreus*. *Zentr. f. Bakt.*, 1892, 12, 49.

MERESHKOWSKY (S. S.). Untersuchung einer achtjährigen Bouillonkultur des Zieseltyphusbacillus (*B. typhi spermophilorum*). *Zentr. f. Bakt., Orig.*, 1909, 51, 1.

MEYER (A.). Kurze Mitteilung über die Begeißelung der Bakterien. *Zentr. f. Bakt., Orig.*, 1902, 31, 737.

MEYER (K.). Über Äskulinnährböden. *Zentr. f. Bakt., Orig.*, 1928, 109, 350.

Der *Enterococcus* als Artindividualität. *Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt.*, 1936, 118, 204.

MIGULA (W.). System der Bakterien. G. Fischer, éd., 2 volumes. 1897-1900.

- MIRONESCO (Th.). Über eine besondere Art der Beeinflussung von Mikroorganismen durch die Temperatur. *Hyg. Rundschau*, 1889, 9, 961.
- MÜHLMANN (M.). Untersuchungen über Dysenterie und verwandte Fragen. Mutationsversuche. *Arch. f. Hyg.*, 1909, 69, 401.
- NICOLLE (Ch.) et TRENEL (M.). Recherches sur le phénomène de l'agglutination. *Ann. Inst. Pasteur*, 1902, 16, 562.
- VAN NIEL (C. R.). Über die Beweglichkeit und das Vorkommen von Geisseln bei einigen *Sarcina*-Arten. *Zentr. f. Bakt., II. Abt.*, 1923, 60, 289.
- NISSLE (A.). Article : « Die Colibakterien und ihre pathogene Bedeutung », in Kolle, Kraus et Uhlenhuth, *Handbuch der pathogenen Mikroorganismen*, 3^e édition, 1929, t. VI, p. 415.
- NEUMANN (F.). Die Sichtbarmachung von Bakteriengeisseln am lebenden Objekt im Dunkelfeld. *Zentr. f. Bakt., Orig.*, 1925, 96, 250.
- Sind Proteusbakterien aus nichtschwärmenden auf Carbolagar gewachsenen Kolonien geissel- und bewegungslos. *Klin. Woch.*, 1926, 1095.
- Die Sichtbarmachung von Bakteriengeisseln am lebenden Objekt im Dunkelfeld. II Mitteilung. *Zentr. f. Bakt., Orig.*, 1928, 109, 143.
- NEUMÜLLER. Bemerkung zur Arbeit von Dr. Neumann : « Die Sichtbarmachung von Bakteriengeisseln am lebenden Objekt im Dunkelfeld ». *Zentr. f. Bakt., Orig.* 1927, 102, 90.
- OGIUTI (K.). Untersuchungen über die Geschwindigkeit der Eigenbewegung der Bakterien. *Jap. Journ. Exper. Med.*, 1936, 14, 19. Analyse : *Zentr. f. Bakt., Ref.*, 1936, 122, 541.
- OMELIANSKY (V.). Osnovi microbiologii (en russe). 7^e édition posthume par B. Issatchenko, Leningrad-Moscou, 1931.
- PFEIFFER (R.). Zu der Arbeit von Prof. Dr. F. S. Novy : Ein neuer anaërober Bacillus des malignen Oedems. *Zeitschr. f. Hyg.*, 1893, 17, 233.
- PIJPER (A.). Begeisselung von Typhus — und Proteusbazillen. *Zentr. f. Bakt., Orig.*, 1930, 118, 113.
- Nochmals über die Begeisselung von Typhus — und Proteusbazillen. *Zentr. f. Bakt., Orig.*, 1931, 123, 195.
- PLASAJ (St.) et PRIBRAM (E.). Über die Eigenbewegung und Begeisselung der Bakterien der hämorrhagischen Septikämie. *Zentr. f. Bakt., Orig.*, 1921, 85, 113.
- POWELL (Margaret). A Motile Streptococcus. *The British Journ. of Experimental Pathology*, 1935, 16, 155.
- REICHERT (K.). Über die Sichtbarmachung der Geisseln und die Geisselbewegung der Bakterien. *Zentr. f. Bakt., Orig.*, 1909, 51, 14.
- Die Geisseln von *Spirillum volutans*. *Zentr. f. Bakt., II. Abt.*, 1909, 25, 72.
- VAN RIEMSDIJK (M.). Über die Beweglichkeit der Anaërobenbakterien und ein neues Verfahren, diese einfach darzustellen. *Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt.*, 1922, 96, 167.

- Der Einfluss des Sauerstoffs auf die Beweglichkeit und Form der Choleravibrien. Der « Dauer » - hängende Tropfen. *Zentr. f. Bakt., Orig.*, 1929, 113, 161.
- RORDORF (Helene). Die Geisselfärbung nach Casares-Gil und ihre Anwendung in der Untersuchung über den Wert der Begeißelung für die Erkennung und Systematik der Bakterien. *Thèse de Sciences*, Lausanne, 1921.
- ROBERTSON (M.) et FELIX (A.). Serolog. studies of the spore-bearing anaerobes. II. *In vivo* experiments with an « O » immune serum to vibron septique devoid of antitoxine content. *The British Journ. of Exper. Pathol.*, 1930, 19, 14.
- ROBERTSON (R. C.) et YU (H.). The value of « H » and « O » agglutination in the serological diagnosis of typhoid fever. *The Chinese Medical Journal*, 1935, 49, 1117.
- ROSSI (G. de). Über die Geisselfärbung, *Zentr. f. Bakt., Orig.*, 1903, 33, 572.
- Über die Agglutinationsfrage und insbesondere die Beteiligung der Geisseln der Bakterien. *Zentr. f. Bakt., Orig.*, 1904, 36, 685 et 37, 107.
- SAKHAROFF (M. N.). Cils composés chez une bactérie trouvée dans les selles d'un cholérique. *Ann. Inst. Pasteur*, 1893, 7, 550.
- SALOMON (W.). Zur Färbung der Bakteriengeisseln. *Zeitschr. f. Infektionskrankh. u. Hyg. der Haustiere*, 1937, 51, 303.
- SANARELLI. Sur la vitesse de locomotion du Vibron cholérique. *Ann. Inst. Pasteur*, 1919, 33, 569.
- SCHIEBLICH (M.). Über einen beweglichen Streptokokkus. (*Str. herbarum* n. sp.) und zwei von grünem pflanzlichen Material isolierte sporenbildende Stäbchen. *Zentr. f. Bakt., Orig.*, 1932, 124, 269.
- SCHIFF (F.) et NATHORFF (E.). Untersuchungen zur Serologie des Fleckfiebers. *Zeitschr. f. Imm., - Forschung*. 1920, 30, 482.
- SCHUBACK (A.). Zur Technik der bakteriologischen Untersuchung von Proteushaltigem Material. *Klin. Woch.*, 1926, 67.
- SHIGA (K.). Weitere Studien über den Dysenteriebacillus. *Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt.*, 1902, 41, 355.
- SERTIC (V.) et BOULGAKOV (N.A.). Bactériophages spécifiques pour des variétés bactériennes flagellées. *C. R. Soc. Biol.* 1936, 123, 887.
- SIMONIN (A.). Contribution à l'étude de quelques méthodes pratiques de coloration des cils des bactéries. *Thèse de Médecine*, Lausanne, 1907.
- SMITH (Th.) et REAGH (A. L.). The non identity of agglutinins acting upon the flagella and upon the body of bacteria. *Journ. of Med. Research*, 1903, 10, 89.
- STÖLTING (J.). Über die Streptokokken des normal reifenden Tilsiter Käses. Beitrag zur Kenntnis beweglicher Streptokokken. *Thèse de Sciences*. Kiel, 1935.
- STRAUS (I.). Sur un procédé de coloration à l'état vivant des cils ou flagella de certaines bactéries mobiles. *C.R. Soc. Biol.*, 1892, 4, 542.
- SWELLENGREBEL (N.-H.). Sur la cytologie comparée des spirochètes et spirilles. *Ann. Inst. Pasteur*, 1907, 21, 448.

- VAN TIEGHEM (Ph). Sur les prétendus cils des bactéries. *Bull. Soc. Bot. France*, 1879, 26, 37.
- ULEHLA (Wl.). Ultramikroskopische Studien über Geisselbewegung. *Biol. Centralblatt*, 1911, 29, 645, etc.
- VEDDER (E. B.) et DUVAL (C. W.). The etiology of acute dysentery in the United States. *The Journ. of Exper. Med.*, 1901-1905, 6, 181.
- VILLINGER (A.). Über die Veränderung einiger Lebenseigenschaften des *Bakterium coli commune* durch äussere Einflüsse. *Arch. f. Hyg.*, 1894, 21, 101.
- VIOLLE (H.). Contribution au diagnostic différentiel entre le groupe de streptocoques et pneumocoques et le groupe des entérocoques par les ricinoléates solubles. *C. R. Soc. Biol.*, 1935, 120, 1042.
- WEATHERALL (Cicely) et DIBLE (I. H.). Aesculin fermentation and haemolysis by enterococci. *The Journ. of Pathol. a. Bacteriol.*, 1929, 32, 413.
- WEI (H.). A study of bacterial flagella by darkfield illumination. *Chinese Med. Journ.* 1936, *Supplement* 1, p. 135.
- WEIL (E.) et FELIX (A.). Weitere Untersuchungen über das Wesen der Fleckfieberagglutination. *Wien. Klin. Woch.*, 1917, 1509.
- Untersuchungen über die gewöhnlichen Proteusstämmen und ihre Beziehungen zu den X-Stämmen. *Wien. Klin. Woch.*, 1918, 637.
- Über die Doppelnatur der Rezeptoren beim Paratyphus β . *Wien. Klin. Woch.*, 1918, 986.
- Über die Doppelnatur der Rezeptoren in der Typhus-Paratyphus-Gruppe. *Zeitschr. f. Imm. Forsch.*, 1920, 29, 24.
- WEINBERG (M.) et SEGUIN (P.). La gangrène gazeuse. Masson, éd., Paris, 1918.
- WEINBERG (M.), DAVESNE (J.) et HABER (P.). Les agglutinogènes du Vibrien septique. Valeur comparative du sérum anti-O et du sérum antitoxique. *Ann. Inst. Pasteur*, 1932, 49, 303.
- WEINBERG (M.), NATIVELLE (R.) et PREVOT (A. R.). Les Microbes Anaérobies. Masson, éd., Paris, 1937.
- WEITZENBERG (R.). Über die Beweglichkeit des *Bac. pseudotuberculosis rodentium*. (A. Pfeiffer). *Zentr. f. Bakt., Orig.*, 1935, 133, 343.
- WILSON (G. S.). The bacteriological grading of milk. Londres, 1935, p. 156 (cité d'après Lévy-Bruhl, Cado et Huri).
- ZEISSLER (I.). Article : « Anaërobenzüchtung » in Kolle, Kraus et Uhlenhuth, *Handbuch der pathogenen Mikroorganismen*, 3^e édition, 1930, 10, 35.
- ZETTINOW. Über Geisselzöffe, *Spirochaete polyspira* und *Planosarcina Schaudinni*. *Zeitschr. f. Hyg.*, 1908, 58, 386.
- Eine Gruppe von beweglichen « Rosa » - Kokken, *Micrococci flavorosei*. *Zentr. f. Bakt., Orig.*, 1918, 81, 1.
- Über Schleimgeisseln. *Zeitschr. f. Hyg. u. Infekt. Krankh.*, 1918, 86, 25.
- ZIERLER (F.). Über die Beziehungen des *Bacillus implexus* Zimmermann zum *Bacillus subtilis* Cohn. Ein Beitrag zur Lehre von der Variabilität der Spaltpilze. *Arch. f. Hyg.*, 1899, 34, 192.

TABLE DES MATIERES

Avant-propos	9
Introduction	11

CHAPITRE I

INFLUENCE DES CONDITIONS DE CULTURE SUR LA MOBILITE DES BACTERIES.

a) Age des cultures	25
b) Influence de la température	26
c) Mobilité et sporulation	31
d) Rôle de la nature et de la composition du milieu, de son pH et d'autres facteurs	31

CHAPITRE II

MISE EN EVIDENCE DE LA MOBILITE DES BACTERIES.

Généralités	33
Procédés directs :	
A — Mise en évidence de la mobilité des microbes aérobies :	
a) Examen en goutte pendante	35
b) Procédé de Levinthal	36
c) Procédé de Koblmüller	36
B — Mise en évidence de la mobilité des anaérobies stricts :	
a) Procédé des tubes capillaires (Dujardin-Beaumetz, Weinberg et Seguin, Sturges)	36
b) Procédé de Van Riemsdijk	37
Procédés indirects	37
Recherches de : Hitchens, Dimitrijevic-Speth, Kuhn et Sternberg, Friedberger, Buonomini.	

CHAPITRE III

MISE EN EVIDENCE DES CILS BACTERIENS

A — PROCEDES BASES SUR L'EXAMEN A L'ULTRAMICROSCOPE	40
Recherches de : Reichert, Neumann, Neumüller, Wei, Pijper.	
B — COLORATION DES CILS BACTERIENS.	
Historique	43
Recherches de : R. Koch, Loeffler, Nicolle et Morax, etc.	
Méthode de Casares-Gil	46
Recherches personnelles	47
Modification personnelle du procédé de Casares-Gil ..	53
Discussion des résultats obtenus avec notre technique..	55
Autres procédés : colorations vitales, procédé à l'encre de Chine de Burri-Gins	58
C — Interprétation des résultats obtenus par la coloration des cils et par l'observation sur fond noir	59

CHAPITRE IV

MOBILITE ET CILS CHEZ LES COCCACEAE.

Généralités : Recherches d'Ellis, de Zettnov, de Van Niel, etc. 64

STREPTOCOCCÉES MOBILES.

Historique 67

Recherches de : Billroth, Flatzek, Schieblich, Henneberg,
Koblmüller, Margaret Pownall, Stölting.

Recherches personnelles sur les entérocoques mobiles 71

Discussion des résultats des recherches sur les Strepto-
coccées mobiles 76

Recherches sérologiques sur les entérocoques mobiles .. 76

Recherches personnelles 77

Conclusions 77

CHAPITRE V

PERTE ET ACQUISITION DES CILS ET DE LA MOBILITE DES BACTÉRIES.

A — EXISTE-T-IL DES BACTÉRIES CILÉES MAIS IMMO- BILES ?

Historique 78

Observations personnelles 80

Discussion des résultats 85

B — PERTE DES CILS. — ACQUISITION DES CILS.

HISTORIQUE. Recherches de Burkhardt 88

a) PERTE DES CILS ET DE LA MOBILITE DES
ESPECES BACTERIENNES NORMALEMENT MO-
BILES 90

Recherches de Villinger, Burckhardt, Grassberger,
etc. 90

Action de l'acide phénique, de l'hydrate de chloral,
etc. 92

Rôle du bactériophage (Recherches de Sertic et
Boulgakov) 92

Recherches personnelles 93

Discussion des résultats 97

b) ACQUISITION DES CILS ET DE LA MOBILITE PAR
DES ESPECES BACTERIENNES NORMALEMENT
IMMOBILES 98

CONCLUSIONS GENERALES 102

INDEX BIBLIOGRAPHIQUE 105

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

L'ANAÉROBIOSE CHEZ LES BACTÉRIES

Vu et approuvé :

Paris, le 5 Mars 1938

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

Ch. Maurain.

Vu et Permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

G. Roussy.

